COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
Ret. from binder
16 OCT 1956

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/journal-of-phytopathology_1953-1954_21

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand, Prof. Dr. H. Braun-Bonn, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Braunschweig, Prof. Dr. K. O. Müller-Canberra, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. **G. Gassner**
Braunschweig

Prof. Dr. **E. Gäumann**
Zürich

Prof. Dr. **M. Klinkowski**
Aschersleben

BAND 21

Mit 194 Abbildungen

1954

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Verlag für Landwirtschaft, Veterinärmedizin, Gartenbau und Forstwesen

BERLIN-WEST, LINDENSTRASSE 44-47

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten
Verlag Paul Parey, Berlin
Printed in Germany by A.W. Hayn's Erben, Berlin SO 36

INHALTSVERZEICHNIS ZUM 21. BAND

Abhandlungen

BARTELS, R., Serologische Untersuchungen über das Verhalten des Kartoffel-A-Virus in Tabakpflanzen. (Mit 3 Abb.) 395

BAZZIGHER, G., Beitrag zur Kenntnis der *Endothia parasitica* (Murr.) And., dem Erreger des Kastaniensterbens. (Mit 27 Abb. und 7 Tabellen) 105

BLUMER, S., Über die Eignung von *Penicillium expansum* für eine biologische Bekämpfung von Schwarzfußpilzen (*Rhizoctonia solani* Kühn). (Mit 6 Abb.) 163

DEUEL, H., Über Störungen des Spurenelementhaushaltes der Pflanzen durch Welketoxine I. (Mit 6 Abb.) 349

GÄUMANN, E. und NAEF-ROTH, ST., Über die chelierende Wirkung einiger Welketoxine I. (Mit 6 Abb.) 349

GÄUMANN, E., RICHLE, K. H., RIGGENBACH, A. und FLÜCK, V., Über die Wirkung von Pyramidon auf pflanzliche Zellen. (Mit 6 Abb.) 279

GASSNER, G. und NIEMANN, E., Untersuchungen über die Temperatur- und Lichtabhängigkeit der Sporenkeimung verschiedener *Tilletia*-Arten. (Mit 16 Abb.) 367

GASSNER, G. G., Untersuchungen über Keimungsbedingungen und Bekämpfungsmöglichkeiten beim Zwergsteinbrand (*Tilletia brevifaciens*) im Laboratorium 53

HOFFMANN, G. M., Beiträge zur physiologischen Spezialisierung des Erregers des Kartoffelschorfes *Streptomyces scabies* (Thaxt.) Waksman and Henrici. (Mit 21 Abb.) 221

KÖHLER, E., Notizen über Pfropfung und Akronekrose bei Kartoffeln. (Mit 4 Abb.) 323

LINSKENS, H. F., Die unterschiedliche Empfindlichkeit von Samen gegenüber Heißwasserbädern (Untersuchungen an Weizen). (Mit 5 Abb.) 45

PACLT, J., Über die Entstehung der Mondringigkeit der Eiche. (Mit 4 Abb.) 210

PACLT, J., Synopsis of the genus *Catalpa* (*Bignoniaceae*) Part VII (Addenda 2). (With 4 figures) 329

RACK, K., Untersuchungen über die Bedeutung der Verwundung und über die Rolle von Wuchsstoffen beim bakteriellen Pflanzenkrebs. (Mit 19 Abb.) 1

SCHEIBE, A., Die phänophasisch bedingte Typenresistenz der Erbsensorten gegen den Erbsenwickler. (Mit 5 Abb.) 433

SCHMID, R., Über die histologische Spezialisierung von Blatt- und Rindenpilzen, mit besonderer Berücksichtigung ihrer Beziehungen zum Phloem. (Mit 17 Abb.) 407

SCHMIDLE, A., Die Cytospora-Krankheit der Pappel und die Bedingungen für ihr Auftreten. (Mit 5 Abb.) 83

Schmidle, A., Zur Kenntnis der Biologie und der Pathogenität von *Dothichiza populea* Sacc. et Briard, dem Erreger eines Rindenbrandes der Pappel. (Mit 11 Abb.) 189

Schneider, R., Untersuchungen über Feuchtigkeitsansprüche parasitischer Pilze. (Mit 10 Abb.) 63

Scrivani, P., Ricerche su di una specie di Fusarium (*Fusarium solani* [Mart] App. et Wr.), producente una Tracheomicosi del Peperone (*Capsicum annuum*). (5 Fig.) 97

Teschner, G., Untersuchungen über *Alternaria solani*, den Hartfäule-Erreger der Kartoffel und Fruchtfäule-Erreger der Tomate. (Mit 15 Abb.) 133

Zobrist, L. und Hoffmann, E., Die Bekämpfung des Zwetschgenrostes mit Zineb. (Mit 1 Abb.) 79

Zobrist, L. und Thiollière, J., Neue Mittel zur Bekämpfung der Korn- und Boden-„Infektion" des Weizensteinbrandes. (Mit 4 Abb.) 311

Kurze Mitteilungen

Bazzi, B. e Scrivani, P., Un metodo diagnostico per il riconoscimento del decorso del „mal secco" degli agrumi 333

Hassebrauk, K., Untersuchungen über die Einwirkung von Sulfonamiden und Sulfonen auf Getreideroste. IV. Anatomische Untersuchungen über den Infektionsverlauf bei mit Sulfonamid behandelten Getreidekeimpflanzen 218

Stange, L., Zur Frage nach den Störungen des Stoffwechsels in den Blättern vergilbungskranker Zuckerrüben 214

Besprechungen

Besprechungen 104, 335, 449

Untersuchungen über die Bedeutung der Verwundung und über die Rolle von Wuchsstoffen beim bakteriellen Pflanzenkrebs

Von

KARL RACK, Mainz-Marienborn

Mit 19 Abbildungen

I. Literaturübersicht und Fragestellung

1. Gesicherte Ergebnisse

Die schon 1853 von FABRE und DUMAL (24) beschriebenen Geschwülste des Weinstocks und ähnliche Wucherungen an vielen Nutzpflanzen wurden 1907 von SMITH und TOWNSEND (85) als Folgen einer bakteriellen Infektionskrankheit erkannt. Der Erreger erhielt die Bezeichnung *Pseudomonas tumefaciens* Smith und Townsend.

Mit diesem Bakterium wurden alsdann an den verschiedensten Pflanzen Beimpfungen vorgenommen, wobei sich herausstellte, daß Vertreter von über 30 Dikotylenfamilien — ohne erkennbare systematische Beziehungen untereinander — und sogar einige Koniferen (81) krebsanfällig sind.

Ferner zeigte sich, daß dieses Bakterium ein echter Wundparasit ist, da die Verwundung eine Voraussetzung für die Infektion darstellt. Darüber hinaus wies MAGNUS (62) eine direkte Proportionalität zwischen Tumorgröße und dem Umfang der Kallusbildung nach reiner Verwundung nach.

Im Gegensatz zum Wundkallus aber erfüllen die bakteriell bedingten Wucherungen ohne Einschränkung die von STAPP (88) formulierte Krebsdefinition und führen somit die Bezeichnung „Krebs" mit vollem Recht.

Die histologischen Beschreibungen aller Autoren stimmen darin überein, daß es sich bei derartigen Tumoren um parenchymatöse Massen handelt, in denen funktionslose Tracheidenbündel eingebettet sind. Der meristematische Bereich liegt peripher, stellt aber keinen einheitlichen Ring dar, sondern zerfällt in wahllos zerstreute Nester meristematischer Zellen. Nicht selten tragen derartige Geschwülste Neubildungen in Form von Sprossen und Blättern, die aber stets mehr oder weniger mißgebildet sind und deren Herkunft noch nicht eindeutig geklärt ist.

1926 machte RIKER (70) die wichtige Beobachtung, daß sich an Tomaten bei Temperaturen oberhalb 30 ° C trotz Beimpfung mit virulenten Stämmen keine Tumoren mehr bilden, obwohl bei diesen Temperaturen (30 bis 33 ° C) die Bakterien noch gut gedeihen und ein bereits induzierter Tumor uneingeschränkt weiterwuchert (14). Später wurde dieser induktionsverhindernde Temperatureinfluß auch für *Sedum, Bryophyllum, Nicotiana* (72) und *Vinca rosea* (7) nachgewiesen. Somit bot sich die Möglichkeit, den Verlauf der Tumorinduktion durch Temperatureinfluß zu unterbrechen und die Mindestzeit zu finden, während der die Bakterien auf das Gewebe einwirken müssen, um Tumorbildung hervorzurufen. Auf diese Art konnten BRAUN und MANDLE (14) an *Kalanchoe* (= *Bryophyllum*) *daigremontiana* zeigen, daß sich der zelluläre Umschwung schon während der ersten 30 bis 40 Stunden nach der Infektion vollzieht (6, 7, 8). — Mit der gleichen Methode wurde erkannt, daß die Tumordisposition vom Wundheilungsprozeß zeitlich begrenzt wird, da nur eine spätestens vier bis fünf Tage nach der Verwundung stattfindende Infektion zur Tumorbildung führt (7, 14). —

Nach vielen Beobachtungen stehen Wuchsstoffe mit dem Krebswachstum in innigem Zusammenhang (33, 34, 38, 57, 58, 59, 79); auch läßt die Fähigkeit der Bakterien, Wuchsstoffe zu bilden (1, 2, 21, 25, 41, 55, 56, 60), eine Beteiligung dieser Stoffe an der Krebsinduktion vermuten (1, 15).

2. Wuchsstoffproblem

Avirulente Stämme sollen bei zusätzlicher Wuchsstoffapplikation Tumoren hervorrufen, die mit den von virulenten Stämmen induzierten Tumoren identisch sind. — Von dieser Beobachtung ausgehend, vertreten BRAUN und LASKARIS (12) die sogenannte Zweiphasentheorie. Hiernach soll die eigentliche Induktion durch ein spezifisches mit den bekannten Wuchsstoffen nicht identisches Agens verursacht werden (Phase 1), die darauffolgende Vermehrung der nun schon entarteten Zellen (Phase 2) aber von einem eventuell mit β-Indolylessigsäure (= IES) identischen Wuchsstoff bewirkt werden. Demgemäß sollen sich virulente von avirulenten Bakterien lediglich hinsichtlich ihrer Wuchsstoffproduktion unterscheiden. —

Hochdosierte Heteroauxinpasten, lokal appliziert, rufen bei gewissen Pflanzen starke Wucherungen hervor, die den bakteriellen Tumoren weitgehend ähneln. Deshalb neigen (im Widerspruch zur Zweiphasentheorie) einige Autoren (2, 38, 56) dazu, den Heteroauxinen eine tumorinduzierende Eigenschaft zuzuschreiben, auf deren alleinige Wirkung auch die bakterielle Tumorinduktion zurückzuführen sei (1, 15). Die Bakterien sollen pflanzliche Proteine spalten und aus deren Bruchstücken, insbesondere aus Tryptophan, IES bilden. Unter dem Einfluß dieses Wuchsstoffes soll dann der „effet d'accoutumance" oder ein ähnlicher Vorgang eintreten. Dieser Effekt, 1942 erstmals von GAUTHERET (26) an Karottengewebe in vitro beobachtet, besteht darin, daß Gewebestücke nach längerer Kultur (fünf Monate bis fünf Jahre) auf IES-haltigen Nährmedien plötzlich zu tumoralem Wachstum übergehen, welches sie auch nach Überpflanzen auf IES-freie Nährböden

in der Regel irreversibel beibehalten. Das Auftreten war stets mit einer völligen Desensibilisierung gegenüber Heteroauxinen verbunden, ein Vorgang, der auch bei der bakteriellen Induktion eintritt (18, 28, 34, 74, 94).

3. Sekundärtumoren

Sekundärtumoren sind Wucherungen, die mehr oder weniger weit entfernt von der Infektionswunde spontan auftreten. Nach SMITH (84) sollen sie stets durch sogenannte „Tumorstrands" — zu Strängen vereinte Krebszellen — mit dem Primärtumor in Verbindung stehen. Solche Krebsstränge sollen durch eine fortschreitende und gerichtete Umwandlung normaler Zellen in Tumorzellen entstehen (appositional growth). ROBINSON und WALKDEN (73) konnten mehrere Zentimeter vom Primärtumor entfernt zahlreiche Bakterien in Interzellularen und Gefäßen nachweisen. Daraus schließen sie, daß der Sekundärtumor die Folge einer neuen Induktion sein kann und nicht ein Auswuchs des Primärtumors zu sein braucht.

Nach SUIT und EARDLY (95) stehen Tumorstrands und Sekundärtumoren nicht mit dem Primärtumor in Verbindung; sie sollen vielmehr an jenen Stellen im Protoxylem entspringen, wo die Gefäße bei gleichzeitiger Gegenwart der Bakterien durch das normale Dickenwachstum zerrissen werden.

BRAUN (5) widmete sich 1941 eingehend dem Problem der Sekundärtumorbildung und konnte an Hand zahlreicher Schnitte zeigen, daß in der Regel zwischen Primär- und Sekundärtumor keine Verbindung besteht. In vielen Sekundärtumoren konnten WHITE und BRAUN (13, 99) trotz umfangreicher Isolierungsversuche und verschiedener Testmethoden weder Viren noch Bakterien nachweisen. Hieraus folgerten sie — wie sich später zeigte, mit Recht (6) —, daß der Erreger wohl für die Induktion, nicht aber für das Wachstum des Tumors wichtig ist.

4. Verwundung

Die Bezeichnung „Wundparasit" bringt bereits zum Ausdruck, daß die Wunde für die Infektion insofern von Bedeutung ist, als sie dem Erreger das Eindringen in das Wirtsgewebe ermöglicht. Ob der Verwundung außerdem eine spezifische Funktion zugesprochen werden muß, bedurfte noch der Klärung. Viele Autoren neigen zu dieser Ansicht, die auf Grund zahlreicher Beobachtungen berechtigt erscheint. So spricht schon MAGNUS (62) von einer Wunddisposition, rechnet aber auch mit der Möglichkeit, daß allein die Einwirkung großer Bakterienmengen zur Tumorbildung ausreicht (61). HILDEBRANDT (39) konstatierte eine eindeutige Relation zwischen Wund- und Tumorgröße und stellte fest, daß eine Wundfläche größer als 3 μ^2 sein muß, um bei Tomaten Tumorbildung zu ermöglichen. Er glaubt deshalb, daß zur Krebsinduktion eine Mindestmenge von Wundhormonen notwendig ist.

BRAUN (6, 8) wies an Hand geeigneter Versuche nach, daß die Induktion vor oder während der aktiven Wundheilung stattfindet und vermutet, daß sie im Zusammenhang steht mit der Restitution einzelner verletzter Zellen. SUIT und EARDLY (95) isolierten sechs Wochen nach der

Beimpfung oberhalb des gebildeten Tumors die Bakterien aus Tomateninternodien, die trotz der Gegenwart des Erregers nicht zur Krebsbildung geschritten waren. STAPP, MÜLLER und DAME (92) zeigten, daß sich 120 cm oberhalb eines Primärtumors bei *Datura tatula* erneut Tumoren bilden können, wenn dort steril verwundet wird. Außerdem beobachtete STAPP (90) das Auftreten von Sekundärtumoren an frischen Blattnarben BERTHELOT und AMOUREUX (2, 3), die feststellten, daß Tryptophan unter der Einwirkung des Sonnenlichtes zu IES umgebaut wird, rechnen mit der Möglichkeit, daß die Krebsanfälligkeit der verschiedenen Pflanzen abhängig ist von dem Tryptophangehalt des Wundsaftes.

An Hinweisen, daß die Verwundung für die Tumorbildung von Bedeutung ist, mangelt es also nicht; jedoch fand sich bisher kein Autor, der sie in den Mittelpunkt eingehender Untersuchungen stellte[1]). Lediglich DE ROPP (76) erbrachte den Beweis, daß meristematische Zellen in innigem Konnex mit virulenten Bakterien nur dann in Tumorzellen umschlagen, wenn sie verwundet werden. Er hält daher die Verletzung der Zelle, das teilweise Freilegen des Protoplasten, für eine wahrscheinliche Voraussetzung der Induktion.

In einem gewissen Gegensatz zu diesen der Verwundung eine spezifische Rolle zuschreibenden Vermutungen stehen Auffassungen, die das Auftreten von Sekundärtumoren lediglich auf eine Bakterienansammlung in den Interzellularen bzw. Gefäßen zurückführen und im Falle der Primärtumoren die Wunde nur als Eingangspforte des Erregers bewerten.

II. Experimenteller Teil

1. Material und Methode

Als Versuchspflanzen dienten 10 bis 30 cm große Exemplare von *Kalanchoe Blossfeldiana* und *Bryophyllum daigremontiana*, die stets im Gewächshaus gehalten wurden. Diese krebsdisponierten Pflanzenarten sind unempfindlich, lassen sich leicht und rasch vermehren (Blattstecklinge bzw. Brutknospen) und besitzen infiltrierbare Blätter.

Das Bakterienmaterial bestand aus zwei ungefähr gleich virulenten Stämmen. Der eine davon war von Herrn Oberregierungsrat Dr. STAPP (Braunschweig) als Stamm II b aus *Chrysanthemum frutescens* isoliert worden, der andere Stamm wurde aus dem Bakteriologischen Institut Delft (Holland) bezogen (= D-Stamm). Beide ständig durch Hitzebehandlung (12 Minuten bei 53 ° C) auf ihre Reinheit geprüften Stämme werden seit vier Jahren ohne Virulenzverlust auf Universalnährboden nach KEIL kultiviert.

Die Methodik bestand im wesentlichen darin, die sukkulenten Blätter der Versuchspflanzen mit Bakteriensuspensionen zu infiltrieren, um vergleichsweise die Wirkung der eingedrungenen Bakterien auf intaktes und nachträglich verschiedenartig geschädigtes Gewebe zu beobachten. Die-

[1]) Die jüngsten Veröffentlichungen von BRAUN (Ann. N. Y. Acad. Sci. **54**, 1952, 1153—1161 und Growth. **16**, 1952, 65—74) konnten leider nicht mehr berücksichtigt werden.

sem Zwecke diente eine Injektionsspritze, die in der aus Abb. 1 ersichtlichen Weise gehandhabt wurde. Die Suspension wurde so lange aus der Spritze gepreßt, bis das ganze Blatt infiltriert war, was man deutlich an dem Dunklerwerden der Spreite verfolgen konnte.

Abb. 1. Infiltrationsmethodik: Der Blattstiel wurde von der Blattunterseite her schräg zur Spitze hin so tief angestochen, daß die Kanülenspitze das unterste Drittel der Blattspreite erreichte

Um die Verteilung der Suspension in Interzellularen und Gefäßen eines nach dieser Methode infiltrierten Blattes verfolgen zu können, wurde eine warme, flüssige Agarfarblösung in einige abgetrennte Blätter der Versuchspflanzen injiziert. Ein nach dem Erstarren des Agars angefertigter Blattquerschnitt ist in Abb. 2 wiedergegeben. Danach drang die Lösung vier bis sieben Zellagen tief gegen das mittlere Parenchym vor. Da die Kanüle beim Einstechen stets größere Gefäße verletzte, die dadurch der Infiltrationsflüssigkeit zugänglich wurden, war die Farblösung oft auch in Gefäßen nachweisbar. In Übereinstimmung hiermit führte die Infiltration mit Bakteriensuspensionen nicht selten zu einer erzwungenen Guttation.

Im Gegensatz zu dieser Methode wurde in der ersten Versuchsreihe im Vakuum infiltriert (siehe dort).

2. Verwundung und Tumorbildung

a) Mechanische Verwundung

Die oben besprochenen Ergebnisse und Beobachtungen erlauben keine eindeutige Beantwortung der Frage, ob Ansammlungen zahlreicher Bakterien in den Interzellularen zu Tumorbildung führen können. Nachstehende Versuchsreihe erstrebt die Klarstellung dieser Frage.

1. Versuchsreihe: Für den Versuch, der sich auf möglichst viele Objekte und über einen größeren Zeitraum (sechs Monate) erstrecken sollte, erwies sich die Injektionsmethode (siehe oben) als nicht brauchbar. Bei dieser Methode bilden sich an den Einstichkanälen stets Tumoren, die während der ersten sechs Wochen die Blattspreiten nur wenig beeinflussen, sie jedoch späterhin oft zum Absterben bringen. Es wurden deshalb Brutknospen von *Bryophyllum daigremontianum* ohne zu verwunden im Vakuum infiltriert:

Sie wurden von mehreren Mutterpflanzen abgeerntet und zu je 35 Stück in zehn Petrischalen (ϕ 90 mm) auf doppelte Lagen feuchter Filterscheiben (ϕ 80 mm) verteilt. — Nach zehn Tagen wurden die durch entsprechende Bewässerung nicht voll turgeszenten Pflänzchen infiltriert.

Sechs Schalen (Tabelle 1, Nr. 1 bis 6) wurden mit einer 10^9 bis 10^{10} Keime je ccm enthaltenden wäßrigen Bakteriensuspension gefüllt, die aus einer drei Tage alten Kultur des II b-Stammes hergestellt worden war. Um die Pflanzen völlig unterzutauchen, sind die Filterblättchen, an denen sie mit ihren Wurzeln festhafteten, mit Quarzsand belastet worden. — Die Brutknospen einer weiteren Schale (Nr. 10) wurden auf die gleiche Art in Leitungswasser untergetaucht. — Daraufhin wurden alle sieben Schalen (1 bis 6, 10) in einem großen Exsikkator mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe zwölf Stunden lang bei guter

Beleuchtung unter Vakuum gesetzt. — Zwecks Kontrolle wurden drei Schalen (Nr. 7 bis 9) bei normalem Luftdruck in die gleiche Bakteriensuspension getaucht, also nicht infiltriert.

Nach beendeter Behandlung wurden die doppelten Filterscheiben aller zehn Schalen mitsamt Knospen vorsichtig aus den Schalen genommen, um den Quarzsand mit mäßigem Wasserstrahl zu entfernen. Dann wurden die unteren Filterblättchen entfernt, die oberen aber, auf denen die Versuchspflänzchen hafteten, einzeln in Blumentöpfe (⌀ 100 mm) mit fein gesiebter Gartenerde gebracht.

Zwischen dem 28. Oktober 1950 und 17. Februar 1951 wurden die Brutknospen der einzelnen Töpfe zu verschiedenen Zeiten steril verwundet, indem die Blätter des zweiten bzw. dritten Knotens je einmal mit einer heißen Nadel angestochen wurden. Letzteres geschah, um im Wundbereich solche Bakterien abzutöten, die infolge der Infiltration vielleicht noch an der Oberfläche der Blätter hafteten. Ferner wurden die Pflanzen während der Wundheilung nur von unter her bewässert.

Durch Pilzinfektion und infolge der Behandlung trat ein großer Verlust an Pflanzen ein, der am Ende des Versuches bei den infiltrierten rund 50 % ausmachte. Nachteilig war auch, daß die Wurzeln das Filtrierpapier zunächst nicht durchdringen konnten und erst nach etwa sechs Wochen in die Erde gelangten.

Über das Ergebnis der Versuche unterrichtet Tabelle 1.

Tabelle 1

Die Abhängigkeit der Tumorbildung von der Verweildauer der Bakterien in den Interzellularen und von der Verwundung
Versuchsdauer: 20. Oktober 1950 bis 12. April 1951

Schale Nr.	Behandlung 20. Oktober 1950	Tag der Verwundung	Tumorbildung
1	Während zwölfstündigem Vakuum in Bakteriensuspension untergetaucht	28. 10. 50	94 ± 6,0 %
2		8. 11. 50	80 ± 8,9 %
3		20. 11. 50	46 ± 10,2 %
4		1. 12. 50	10 ± 5,5 %
5		12. 1. 51	2 ± 2,2 %
6		17. 2. 51	—
7	Untergetaucht ohne Vakuum	22. 10. 50	—
8		2. 11. 50	2 ± 2,0 %
9		30. 11. 50	—
10	Wasserkontrolle	28. 10. 50	—

Tumoren traten nur an mit steriler Nadel erzeugten Wunden auf. Die Gegenwart zahlreicher Bakterien in den Interzellularen allein genügt demnach nicht zur Tumorbildung. Der Vergleich mit jenen Pflanzen, die in die Suspension nur getaucht, aber nicht infiltriert worden waren (Nr. 7 bis 9), beweist, daß die entstandenen Tumoren nicht von Bakterien induziert worden sind, die eventuell nach der Infiltration an den Blattoberflächen zurückgeblieben waren; denn an den Blättern dieser nur getauchten Pflanzen mit mehr als 100 Wunden trat nur in einem einzigen Falle (Nr. 8) Tumorbildung ein. Die stets nur an Wundstellen auftretenden Tumoren wurden also von

solchen Bakterien hervorgerufen, die in den Interzellularen lebten, in denen sie mindestens zwölf Wochen lang (Nr. 5) als tumorinduzierend nachgewiesen werden konnten.

Die gebildeten Tumoren erreichten mitunter einen Durchmesser von 3 bis 4 mm und übertrafen dann an Masse die kleinen Blätter, auf denen sie sich entwickelt hatten. An den Wasserkontrollen traten keine Wucherungen auf.

Das Ausbleiben der Tumoren an spät erzeugten Wunden ist kein sicherer Beweis für ein langsames Absterben der Bakterien; denn erstens erreichen die infiltrierten Blätter einen Alterszustand, in welchem sie nicht mehr disponiert sind (Versuchsreihe 9), zweitens können die Bakterien unter dem Einfluß des Wirtes avirulent werden (80) und drittens wird die Krebsbereitschaft von der Jahreszeit beeinflußt.

2. Versuchsreihe: Nachdem sich gezeigt hatte, daß virulente Bakterien in den Interzellularen unverwundeten Blattgewebes keine Tumorbildung hervorrufen, war festzustellen, wie sich ihre Gegenwart in den Gefäßen auswirkt. Nach Braun (5) sollen die Gefäße beimpfter Pflanzen Stoffe bakteriellen Ursprungs enthalten, die in das umliegende Gewebe diffundieren und dort Tumorstrands sowie Sekundärtumoren induzieren. Gleichgerichtete Versuche sind bereits von Suit und Eardly (95) durchgeführt worden. Im Gegensaz zu diesen Autoren, die Sproßteile mit frischen Schnittwunden in Bakteriensuspensionen tauchten und das Einbringen der Bakterien in die Gefäße dem Transpirationsstrom überließen, wurden im vorliegenden Versuch Blätter von *K. Blossfeldiana* und *B. daigremontianum* mittels Injektionsspritze infiltriert. Hierbei dringt die Bakteriensuspension nicht nur in die Interzellularen ein, sondern auch in die beim Einstich verletzten Gefäße (Abb. 2).

Die Versuchspflanzen, je zehn der beiden Spezies, waren zur Zeit des Versuches 20 bis 30 cm groß. Fast alle ihre Blätter (etwa 100) wurden mit Suspensionen unserer beiden Stämme infiltriert. Letztere wurden hergestellt, indem zu jeweils 100 ccm Leitungswasser die gesamte Bakterienmasse eines vier Tage vorher beimpften Schrägröhrchens gegeben wurde. Nach der Infiltration wurde ein Teil der behandelten Blätter mit steriler Nadel verwundet.

Fünf Wochen nach erfolgter Behandlung zeigte sich, daß nur jüngere Blätter tumoranfällig sind. Bei älteren Blättern verheilen die Impfwunden in der Regel normal, vorausgesetzt, daß nicht ihre Stiele oder Mediannerven getroffen werden. Während

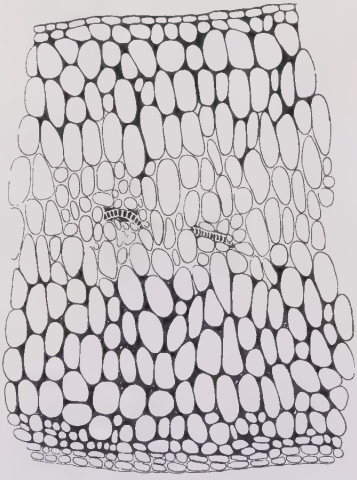


Abb. 2. Querschnitt durch ein mit warm-flüssiger Agarfarblösung infiltriertes *Bryophyllum*-Blatt (halbschematisch). Die Lösung drang vier bis sieben Zellagen tief gegen das mittlere Parenchym vor und war auch oft in Gefäßen nachweisbar

aber die Tumoranfälligkeit der Blätter von *K. Blossfeldiana* kontinuierlich mit der Insertionshöhe abnimmt, vollzieht sich dieser Dispositionsverlust bei *Bryophyllum*-Blättern früher und unvermittelter: Junge Blätter, die noch keine Brutknospen tragen bzw. noch nicht fertig ausgebildet haben, bilden verhältnismäßig rasch große Tumoren; ältere Blätter dagegen, deren Brutknospen schon abgefallen oder voll ausgebildet sind, lassen nach Beimpfung mit beiden Stämmen praktisch keine Wucherungen mehr erkennen. Deshalb kann sich bei dieser Pflanze der Übergang von Anfälligkeit zu weitgehendem Dispositionsverlust der Blätter zwischen zwei benachbarten Knoten vollziehen, während er sich bei *K. Blossfeldiana* über die vier bis fünf jüngsten Knoten erstreckt.

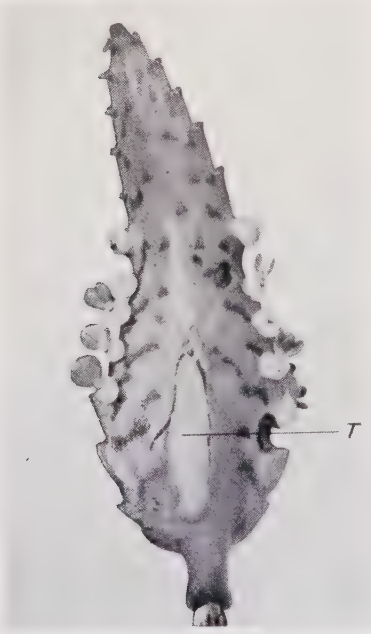


Abb. 3. Tumorbildung in den Blattkerben eines infiltrierten *Bryophyllum*-Blattes, die ohne künstliche Verwundung auftraten. T = Tumor am Einstichkanal

Im Gegensatz zu den anfälligen Blättern von *K. Blossfeldiana,* die nur dort Tumoren aufwiesen, wo sie während oder nach der Infiltration verwundet worden waren, entwickelten sich bei einem Teil der *Bryophyllum*-Blätter wider Erwarten auch an solchen Stellen Tumoren, wo keine Verwundung vorzuliegen schien. So trugen 9 von 38 anfälligen Blättern an jenen Stellen des Blattrandes Tumoren, an denen sich nach Infiltration im Verlaufe der normalen Ausdifferenzierung Brutknospen entwickelt hatten (Abb. 3). Insgesamt wurden 42 derartige Tumoren gezählt. — Die zur Zeit der Infiltration makroskopisch noch nicht sichtbaren Brutknospen wurden in ihrer Entwicklung nur selten von diesen Tumoren teratonomisch beeinflußt (Abb. 4). Es war lediglich ein vorzeitiges Austreiben der Brutknospen und ein Anschwellen ihrer Basalwülste zu beobachten; auch unterblieb die Ausbildung der Trennungsschichten, so daß die Knospen nach ihrer Reife nicht abgeworfen wurden.

Diese Beobachtungen führen im Hinblick auf die Ergebnisse der ersten Versuchsreihe zu der Frage, ob im Verlaufe der Brutknospenentwicklung nicht irgendwelche Wachstumsvorgänge zu Zerreißungen und Wunden führen. Es wurde deshalb die Entwicklung der Brutknospen in dieser Hinsicht untersucht.

Eine binokulare Betrachtung der Blattkerben, in denen sich bekanntlich die Brutknospen entwickeln, ergab die in Abb. 5 und 7 dargestellten Befunde. Danach ist das Wachstum der brutknospentragenden Höcker (= „innere

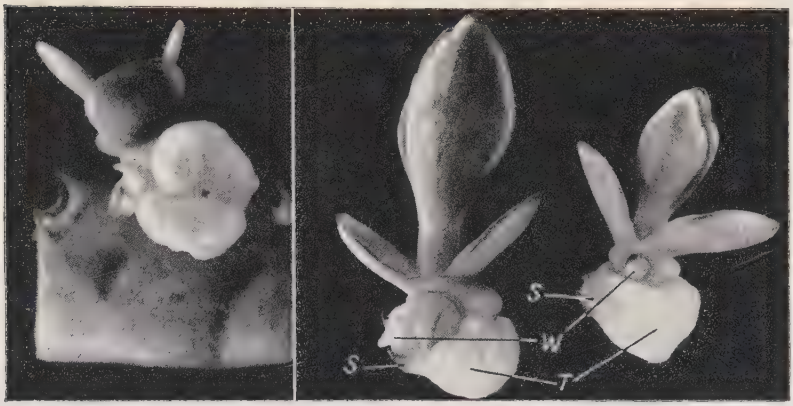


Abb. 4. Die in Blattkerben infiltrierter *Bryophyllum*-Blätter auftretenden Tumoren haben die normale Ausdifferenzierung der Brutknospen nicht beeinflußt. T = tumorale Spitze des brutknospentragenden „inneren Zahnes"; W = Wurzelanlage; S = Schnittfläche zwecks Trennung vom Blatt

Zähne") für eine Verwundung von besonderer Bedeutung. Dieser Wachstumsverlauf soll deshalb näher beschrieben werden:

Junge Blätter von 2 bis 3 cm Länge lassen makroskopisch noch keinerlei Besonderheiten erkennen; sie erweisen sich als normal gezähnt (Abb. 5 a). Mikrotomschnitte durch solche Blätter zeigen bereits die Anlagen der Brutknospen (Abb. 6 a).

An den Blättern des darunterliegenden Knotens werden die „inneren Zähne" als kleine Gewebehöcker von der Spitze zur Basis hin ausgegliedert (Abb. 5 b); in einigen Fällen treten jetzt schon Zerreißungen der Epidermis auf (Abb. 5 c).

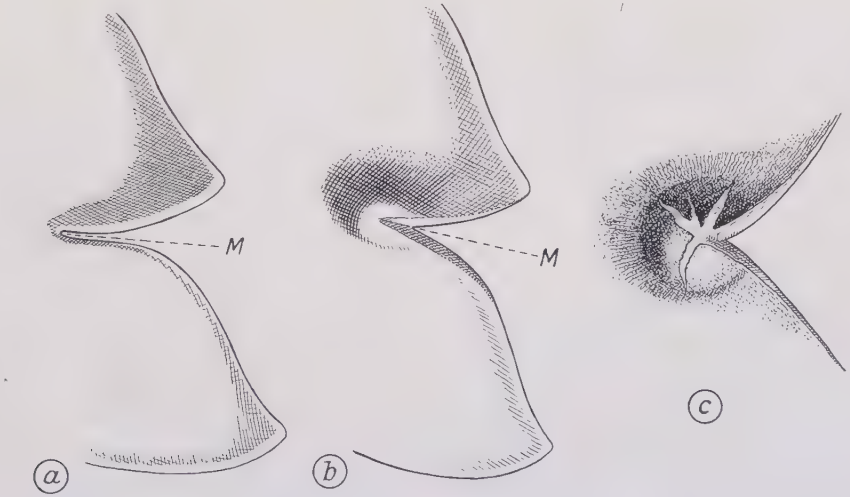


Abb. 5. Drei Entwicklungsstadien des „inneren Zahnes" in Aufsicht: Dieser hebt sich als kleiner Gewebehöcker in der von zwei äußeren Zähnen gebildeten Bucht empor (b), wobei die Wachstumsvorgänge oft zu Zerreißungen führen (c). (M = Mediane des Höckers bzw. der Anlage)

Untersucht man solche Blätter, die an ihren Spitzen gerade eben sichtbare Brutknospen tragen, so erweist sich ein hoher Prozentsatz als „verwundet". Von 420 unter dem Binokular untersuchten Höckern trugen 69 % an ihren Spitzen dunkelbraune Narben. — Nicht genau in die Medianen der Höcker fallende Längsschnitte sind in den Abb. 6 b (jüngeres Stadium) und 6 c (älteres Stadium) wiedergegeben.

Die wachstumsbedingten Verwundungen treten nur während eines bestimmten kurzen Entwicklungsstadiums der Brutknospe auf (Abb. 8). An dieser sechs Wochen nach der Infiltration photographierten Blatthälfte waren die „Wunden" der oberen fünf Blattkerben am Tage der Behandlung bereits verheilt, so daß sich an ihnen keine Tumoren mehr bilden konnten. Ihre Brutknospen sind noch nicht sichtbar, da der bereits von SMITH (83) beobachtete stimulierende Einfluß der Tumoren hier fortfällt. Die vier „inneren Zähne" der unteren Hälfte dagegen wurden erst später (zur Zeit der Infiltration) durch Wachstumsvorgänge verwundet. Da die Ausgliederung der Brutknospen nicht gleichzeitig vor sich geht, sondern von der Spitze zur Basis hin fortschreitet, erfolgt die Verwundung und die damit verbundene Tumorinduktion der einzelnen Zähne entsprechend nacheinander. Abb. 8 läßt die mit abnehmendem Alter basipetal kleiner werdenden Brutknospen und Tumoren deutlich

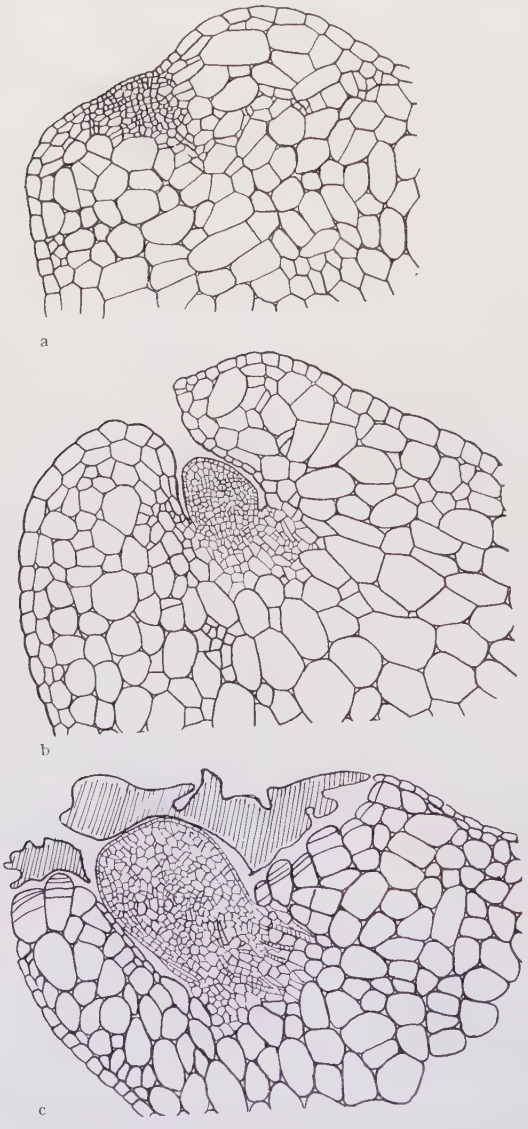


Abb. 6. Nicht genau in die Mediane des Höckers fallende Schnitte (vgl. Abb. 7) durch verschieden alte Brutknospenanlagen. c = Wundheilung

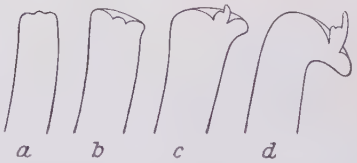


Abb. 7. Stadien der Abb. 5a, 6a (a), 5b, 6b (b/c) und 5c, 6c (c/d); schematisch im idealen Medianschnitt durch die Knospenanlage

erkennen, ebenso das frühzeitige Austreiben der Brutknospen unter dem Einfluß der Tumoren.

Diese Ergebnisse haben den anfänglich zwischen den Versuchsreihen 1 und 2 auftauchenden Widerspruch nicht nur beseitigt, sondern die Bedeutung der Verwundung noch unterstrichen.

Die Verwundung als Voraussetzung der Tumorbildung steht deshalb im Mittelpunkt weiterer Untersuchungen. Zunächst erhebt sich die Frage, ob der Wundsaft eine Nahrungsquelle für die Bakterien darstellt und ob die dadurch ermöglichte Vermehrung des Erregers zur Induktion führt (8).

3. Versuchsreihe: Zur Klärung dieser Frage wurde der Bakterienstamm II b zu einem Teil in der auf Seite 4 genannten Nährlösung, zum anderen Teil in einer 8 %igen Melasselösung aufgeschwemmt. Beide Suspensionen wurden mittels Injektionsspritze in jeweils 40 Blätter von *K. Blossfeldiana* infiltriert.

Trotz zehnwöchiger Versuchsdauer hatten sich in keinem Falle irgendwelche Tumoren gebildet, außer an den Einstichkanälen. Wurden solche Blätter durch sterile Nadelstiche verwundet, so bildeten sich zu etwa 70 % Tumoren. — Demnach führt die Gegenwart der Bakterien in Interzellularen und Gefäßen selbst unter optimalen Bedingungen, die eine Vermehrung des Erregers ermöglichen, nicht zur Tumorbildung.

Es bleibt die von Hildebrandt (39) aufgeworfene Frage zu klären, ob die bei der Verwundung auftretenden pflanzeneigenen Abbauprodukte bzw. Wundhormone (36, 37) cancerogenen Einfluß haben, etwa vergleichbar mit der Wirkung von Nekrohormonen auf die Kallusbildung. Folgende Versuchsreihe dient der Überprüfung dieser Erwägung.

Abb. 8. Die basipetale Ausgliederung der Brutknospen und damit die zeitlich aufeinanderfolgenden Verwundungen der einzelnen Höcker kommt in der Größe der einzelnen Tumoren zum Ausdruck

4. Versuchsreihe: In methodischer Hinsicht schien das Vorgehen von Reiche aussichtsreich (68). Die Autorin konnte durch Injektion pflanzeneigener Preßsäfte Teilungen auslösen, und zwar ohne sichtbare Verwundung oder Reizwirkung. Die von ihr beschriebenen Teilungen traten in der Regel nur in Zellen auf, welche an die mit Eigensaft gefüllten Interzellularen grenzten, wobei die Teilungswände stets senkrecht zur Diffusionsrichtung standen.

Ihrer infiltrierten Blätter wegen wurden wiederum *K. Blossfeldiana* und *B. daigremontianum* als Versuchspflanzen verwendet. Von erstgenannter Art wurden 80, von letztgenannter 35 Blätter mit Suspensionen infiltriert, die folgendermaßen hergestellt worden waren: Junge Blätter und Sproßspitzen

der genannten Pflanzenarten wurden jeweils im Mörser mit wenig Quarzsand völlig zerrieben und durch ein Leinentuch gepreßt. Die erhaltenen trübgrünen Säfte wurden dann mit einer Bakteriensuspension des II b-Stammes jeweils auf das Doppelte verdünnt. —

Die Infiltration wurde durch die Gegenwart von Zellfragmenten, die mitunter die Interzellularen verstopften, wesentlich erschwert. Dieser Umstand wurde in Kauf genommen, da REICHE (68) mit unfiltrierten Säften bessere Ergebnisse erzielte als mit filtrierten. —

Manchmal trat eine nicht erwünschte Verwundung ein, indem der starke Infiltrationsdruck ein Ablösen und Aufblähen der Epidermis bewirkte. Dieser unplanmäßige Verlauf war stets erkennbar und wurde bei der Auswertung eliminiert. Besondere Aufmerksamkeit erforderten kleine Wundstellen auf der Blattunterseite, die gewaltsam zu Poren erweiterte Spaltöffnungen darstellten, aus denen Infiltrationsflüssigkeit austrat. Blätter, bei denen sie besonders zahlreich auftraten, wurden verworfen. Für jedes verbleibende Versuchsblatt wurden Anzahl und Orte solcher Wundstellen notiert, um sie beim Auswerten der Ergebnisse berücksichtigen zu können. — Die soeben geschilderten Schwierigkeiten traten nur bei *Bryophyllum*-Blättern auf. Blätter von *K. Blossfeldiana* waren bedeutend einfacher zu infiltrieren, nicht zuletzt deswegen, weil bei dieser Pflanze relativ alte Blätter mit weiten Interzellularen noch krebsempfindlich sind (Seite 8) und für diesen Versuch verwertet werden konnten.

Acht Wochen nach der am 20. Januar 1952 durchgeführten Infiltration waren von den 80 behandelten *Kalanchoe*-Blättern 21 abgefallen; 10 Blätter zeigten am Einstichkanal keine Tumorbildung, die restlichen verwertbaren 49 Blätter besaßen deutliche Tumoren an den Einstichkanälen, jedoch in keinem Falle auf den Blattspreiten. Freihandschnitte zeigten in Übereinstimmung mit REICHE (68), daß an Interzellularen grenzende Zellen in einigen Fällen zu Teilungen angeregt worden waren.

Von den behandelten *Bryophyllum*-Blättern waren nur zwei abgefallen. An den Einstichkanälen der restlichen 33 Blätter hatten sich große Tumoren gebildet. Die Spreiten waren tumorfrei, abgesehen von insgesamt 32 kleinen Tumoren (⌀ 1 bis 2 mm), die durch unerwünschte Verwundungen bei der schwierigen Infiltration hervorgerufen worden waren. Es handelte sich bei ihnen stets um glattwandige, blaßgrüne, kugelige Tumoren, die als Merkmal ihrer Herkunft winzig kleine Narben trugen. Mit einer Ausnahme entsprangen sie alle an den (notierten) infiltrationsbedingten Wundporen.

Der Schluß, die Verwundung könne durch die Gegenwart eigener Preßsäfte nicht ersetzt werden, ist auf Grund dieser Ergebnisse berechtigt.

b) Verwundungen nicht mechanischer Art

Bei den bisherigen Infektionsmethoden bildeten sich Tumoren nur an Wundstellen. Da diese Wunden stets mechanischen Ursprungs waren, lag die Frage nahe, ob Schädigungen anderer Art in gleichem Maße Tumorbildung ermöglichen. Zunächst wurde deshalb untersucht, wie sich an infiltrierten *Bryophyllum*-Blättern Schädigungen durch Temperatureinflüsse auswirken.

Obwohl Erfrierungen und Verbrennungen einer mechanischen Verwundung weitgehend gleichkommen, da sie zu Spannungen und Gewebezerreißungen führen, muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß derartige Schädigungen die Tumorbildung anders beeinflussen als die mechanische Verwundung. So ist z. B. fraglich, ob bei gleicher Wundgröße die Zahl der weiterlebenden geschädigten Zellen in jedem Falle die gleiche ist. Diese Frage ist von besonderem Interesse, da BRAUN (7) und DE ROPP (79) den Kontakt zwischen Bakterien und geschädigten, bloßgelegten, aber nicht zum Absterben verurteilten Protoplasten für eine Voraussetzung der Induktion halten.

5. Versuchsreihe: Das Ergebnis eines Vorversuches, bei dem Verbrennungen an infiltrierten *Bryophyllum*-Blättern durch Berühren mit einem glühenden Messingdraht hervorgerufen worden waren, zeigte bereits, daß auch Brandwunden zu Tumorbildung führen (Abb. 9). Um aber jeden äußeren mechanischen Einfluß zu verringern, wurde im Hauptversuch die Verbrennung durch ein Brennglas verursacht: Jede linke Blatthälfte wurde an zwei bis drei Stellen so lange bestrahlt, bis jeweils eine kleine Dampfwolke erschien. Die rechten Blatthälften wurden zur Kontrolle rein mechanisch verwundet. Zu diesem Versuch, der am 20. September 1951 begann, wurden die Blätter von 16 Pflanzen verwendet.

Abb. 9. Tumorbildung auf einem infiltrierten *Bryophyllum*-Blatt. Links: durch nachträgliche sterile mechanische Verwundung. Rechts: durch Verbrennung (Betupfen mittels einer glühenden Drahtspitze)

Von den 32 behandelten Blättern waren nach Ablauf von sieben Wochen 17 an den Brennwunden und mechanischen Wunden einschließlich Einstichstellen symptomlos geblieben. Dieser große Ausfall ist wahrscheinlich auf die Jahreszeit zurückzuführen, da die Krebsbereitschaft offenbar der jahreszeitlich bedingten Aktivität des Pflanzengewebes unterliegt. Die restlichen 15 Blätter bildeten Tumoren an den Injektionskanälen und mechanischen Wunden sowie an den Brennflecken in Form von Ringwülsten.

Die zur Tumorbildung notwendige Verwundung braucht demnach nicht ausschließlich mechanischer Natur zu sein; sie kann auch durch Verbrennungen erreicht werden, die allerdings mechanische Schädigungen mit sich bringen.

6. Versuchsreihe: Obwohl sich Erfrierungen am pflanzlichen Gewebe noch stärker mechanisch auswirken als Verbrennungen (93), ist auch der Einfluß dieser Schädigung auf die Tumorbildung untersucht worden.

Am 24. September 1951 sind auf etwa 30 junge, mit einer Suspension des II b-Stammes infiltrierte *Bryophyllum*-Blätter so lange kleine Trockeneisstücke gelegt worden, bis eine Schädigung durch Glasigwerden der behandelten Stellen sichtbar wurde. Nach siebenwöchiger Versuchsdauer zeigte sich erwartungsgemäß, daß Kälteschädigungen wie mechanische Verwundung zur Krebsbildung führen.

Da schlecht entschieden werden kann, ob nach Temperaturschädigungen bloßgelegte, aber weiterlebende Protoplasten vorhanden sind oder nicht, war eine Schädigungsart zu suchen, die einerseits zu einer Wundperidermbildung führt, andererseits jede mechanische Nebenwirkung ausschließt. Aus diesem Grunde wurden infiltrierte *Bryophyllum*-Blätter mit Säuren und Laugen lokal geätzt.

Abb. 10. Tumorbildung auf infiltrierten *Bryophyllum*-Blättern nach KOH-Ätzung; a: durch Applikation eines Tropfens 1n KOH (links), rechts zur Kontrolle mechanisch verwundet; b: durch Benetzung einer größeren Fläche mit 1/2n KOH

7. Versuchsreihe: Auf *Bryophyllum*-Blätter, die mit einer aus dem II b-Stamm hergestellten Suspension infiltriert worden waren, wurden kleine Tröpfchen einer 1n Schwefelsäure so geträufelt, daß an zwei bis drei Stellen aller rechten Blatthälften nur ein Tropfen zum Haften kam. Die spiegelbildlich gleichen Stellen der jeweiligen linken Blatthälften wurden zur Kontrolle mechanisch verwundet. Auf diese Art wurden an 44 Blättern von 22 Pflanzen insgesamt 108 Ätzstellen und 112 mechanische Wunden erzeugt.

Der Versuch währte vom 15. Oktober bis 31. Dezember 1951. Während dieser Zeit fielen 12 Blätter ab, so daß noch 32 Blätter mit insgesamt 80 Ätzstellen und 82 mechanischen Wunden untersucht werden konnten. — Mit Ausnahme von zwei schwachen Tumoren an zwei Einstichkanälen, die von der Infiltration herrührten, wurden weder die Ätzflecken noch die mechanischen Wunden einschließlich der übrigen Einstichkanäle zu Ausgangspunkten von Tumoren. — Die aufgeträufelte Säure scheint das ganze Blatt derart

anzusäuern, daß entweder die Bakterien avirulent bzw. abgetötet oder in dem Blattgewebe Verhältnisse geschaffen werden, die in ihrer Auswirkung weitgehend einer Immunität gleichkommen (vgl. 80).

8. Versuchsreihe: Während Schwefelsäure die Tumorbildung weitgehend verhindert, läßt der gleichzeitig mit Versuchsreihe 7 unter denselben Versuchsumständen durchgeführte Versuch 8 mit 1n KOH erkennen, daß eine Schädigung mit Lauge ähnlich wie die mechanische Verletzung cancerogen wirkt (Abb. 10). In diesem Falle dürfte im Gegensatz zu den Temperaturschädigungen keine mechanische Verwundung sekundärer Natur möglich sein.

3. Wuchsstoffwirkung und Tumorbildung

Viele Autoren widmen sich diesem Thema, und keiner von ihnen bestreitet, daß Wuchsstoffe, insbesondere Heteroauxine, an der Tumorbildung irgendwie beteiligt sind. Im einzelnen sind die Auffassungen nicht widerspruchsfrei.

Ein wachsender Tumor verhält sich wie eine Wuchsstoffquelle: er löst in der Pflanze alle jene Reaktionen aus, die künstlich durch Wuchsstoffapplikation erzielt werden können: Epinastie, Adventivwurzelbildung, Verlängerung der Blatthaftdauer und Hemmung der Achselknospen (1, 56, 58, 75). Diese Wuchsstoffwirkungen des Tumors konnten durch eigene Beobachtungen bestätigt werden; so wurde z. B. ein Infloreszenzschaft von *K. Blossfeldiana* durch die Gegenwart eines Tumors zwei Jahre lang am Absterben gehindert, während unbeimpfte Infloreszenzstiele kurz nach dem Verblühen absterben (22). Im Einklang mit diesen Beobachtungen ist der Wuchsstoffgehalt von Tumoren höher als in normalem Pflanzengewebe (51, 57, 58, 59).

Der hohe Wuchsstoffgehalt der Tumoren, die Fähigkeit der Bakterien, Wuchsstoffe zu bilden (1, 2, 55) und die Möglichkeit, durch hohe Heteroauxindosen kallöse Wucherungen an verschiedenen Pflanzen zu erzielen (21, 38, 46, 79), sind die wichtigsten Argumente jener Autoren, die den Heteroauxinen eine wesentliche bzw. die alleinige Rolle bei der Krebsbildung zuschreiben. Sie führten zu den erwähnten zwei Wuchsstofftheorien des Pflanzenkrebses. Nach der einen ist die IES mit dem Cancerogen identisch (1), nach der anderen bewirkt sie nur die Vermehrung der Krebszellen, für deren Entstehung ein unbekanntes Agens verantwortlich ist (Zweiphasentheorie).

a) Heteroauxin

Nach jeder der beiden Theorien müßte bei einem alten, wuchsstoffarmen Blatt (86), das nur schwach zur Tumorbildung neigt (Seite 8), durch Heteroauxinzufuhr eine Förderung der Tumorbildung zu erwarten sein. Dadurch würde nach der ersten Vorstellung die Konzentration des Krebsagens erhöht und nach der zweiten die Vermehrung der entarteten Zellen beschleunigt. — Diese Überlegungen führten zur

9. Versuchsreihe: Es sollte versucht werden, die auf Seite 8 genannte altersbedingte Begrenzung der Anfälligkeitsbereiche durch Zugabe von IES aufzuheben bzw. zu lockern.

192 Blätter von 32 einjährigen *Kalanchoe*-Pflanzen wurden nach unterschiedlicher Vorbehandlung (siehe unten) mit einer 1,3 mm starken Injektionskanüle jeweils mehrfach verwundet. Die Einstiche sind auf der Blattspreite möglichst gleichmäßig verteilt worden: auf 1 cm^2 Blattfläche kam ungefähr eine Lochwunde. Da die Blätter, stets den sechs jüngsten Knoten der Versuchspflanzen angehörend, verschieden groß sind, schwankte die Anzahl der Wunden je Blatt zwischen 6 und 25.

Die Versuchspflanzen wurden je nach Art ihrer Behandlung in die folgenden Gruppen eingeteilt:

Gruppe 1: 48 Blätter von acht Pflanzen (= Gruppe) wurden mit einer 0,02 %igen IES-Kaliumsalzlösung infiltriert. Die darauffolgende Verwundung erfolgte mit steriler Kanüle.

Gruppe 2: Nach der IES-Infiltration wurde mittels Kanüle verwundet, die vier Tage alte Bakterien des II b-Stammes enthielt.

Gruppe 3: Die Blätter wurden mit Leitungswasser infiltriert und unter den gleichen Bedingungen wie Gruppe 2 mit Bakterien des II b-Stammes infiziert.

Gruppe 4: Die restlichen 48 Blätter wurden mit Leitungswasser infiltriert und dann mit steriler Kanüle verwundet.

Der Versuch begann am 29. August 1951 und wurde am 23. Oktober 1951 abgeschlossen. Zu dieser Zeit waren die Wundlöcher der Gruppe 4 normal verheilt. Sie hatten einen Durchmesser von 1 bis 3 mm, je nach Blattalter (Streckungswachstum). Demgegenüber erschienen die Löcher der Gruppe 1 an jungen Blättern durchschnittlich etwas verengt.

Bei den Gruppen 2 und 3 (Tabelle 2) galt als Mindesttumorkriterium der vollkommene Verschluß der Lochwunden durch Wucherungen. Diese summarische Art der Auswertung erschien berechtigt, weil zwischen den beiden Gruppen keine Größenunterschiede der Tumoren auf sich entsprechenden Blättern festgestellt werden konnten.

Tabelle 2

Vergleich zwischen Tumorbildung auf IES-infiltrierten und leitungswasserinfiltrierten *Kalanchoe*-Blättern in Abhängigkeit von ihrem Alter, ausgedrückt durch die Knotennummer (Numerierung nach der Reihenfolge der Entfaltung)

Knoten Nr.	Gruppe 2 (IES + Stamm II b)		Gruppe 3 (Wasser + Stamm II b)	
	Anzahl der Wunden	Tumoren in %	Anzahl der Wunden	Tumoren in %
6	73	66,0 ± 5,5	72	77,0 ± 4,9
5	98	62,0 ± 5,0	88	73,0 ± 4,7
4	89	36,0 ± 5,0	111	43,0 ± 4,7
3	136	18,0 ± 3,2	102	16,0 ± 3,6
2	120	7,5 ± 2,4	128	9,0 ± 2,4
1	109	5,0 ± 2,0	137	4,0 ± 1,8

Durch die Infiltration mit 0,02 %iger IES-Kaliumsalzlösung ist, wie Tabelle 2 zeigt, keine Erweiterung des Anfälligkeitsbereiches hinsichtlich des Blattalters eingetreten. Die IES scheint in der angewandten Konzentration bei jungen Blättern die Tumorbildung eher zu hemmen.

Ein entsprechender Versuch mit 0,03 %iger IES und dem Bakterienstamm D lieferte ähnliche Ergebnisse.

Die Ergebnisse beider Versuchsreihen wurden noch weiter ausgewertet: Abb. 11 stellt einen Vergleich der Anfälligkeitszonen der Blätter von Gruppe 2 und 3 dar. Die linke Hälfte des Schemas gibt die prozentuale Tumorbildung in den markierten Zonen jener Blätter wieder, die vor der Beimpfung mit einer 0,02 %igen bzw. 0,03 %igen IES-K-Salzlösung infiltriert worden waren (Gruppe 2), während die rechte Hälfte das Entsprechende für wasserinfiltrierte Blätter erkennen läßt (Gruppe 3). Berücksichtigt wurden alle Blätter der jeweiligen Gruppe mit mindestens einem Tumor. — Die Anfälligkeit nimmt mit kleiner werdendem Abstand von der Blattmittelrippe bzw. Querzone deutlich zu. Eine Erhöhung der Tumordisposition durch die IES-Infiltration ist auch hier nicht zu beobachten.

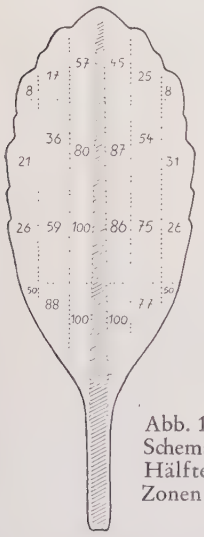


Abb. 11. Vergleich der Tumorbildung auf IES-infiltrierten (linke Hälfte des Schemas = Gruppe 2 der Versuchsreihe 9) und wasserinfiltrierten (rechte Hälfte = Gruppe 3) *Kalanchoe*-Blättern. Die Zahlen geben für die markierten Zonen die prozentuale Tumorbildung wieder

Demnach ist die „Immunität" älterer, wuchsstoffarmer Blätter nicht auf den Mangel an Heteroauxin zurückzuführen, und es kann auf Grund dieses Versuches keine der beiden Wuchsstofftheorien gestützt werden.

Um die Frage zu klären, ob die Wundheilung bei älteren Blättern sich anders vollzieht als bei jungen und ob dieser Unterschied die verschiedenen Anfälligkeitsgrade bedingen könnte, wurden junge und alte Blätter von *B. daigremontianum* mehrfach zur gleichen Zeit verwundet und 24, 48, 72, 96, 160, 168 und 240 Stunden danach je zwei Blätter fixiert, gefärbt und geschnitten. Das Ergebnis ist aus den Abb. 12 bis 15 (S. 27/28) zu ersehen. Hiernach besteht eine Verzögerung im Auftreten der ersten Teilungswände bei älteren Blättern. Diese Verzögerung kann mit der „Immunität" älterer Blätter im Zusammenhang stehen, zumal die Unterschiede der Teilungsraten in der Zeitspanne besonders deutlich werden, während der sich nach Braun (7) die Induktion vollzieht. 240 Stunden nach der Verwundung fixierte alte und junge Blätter unterschieden sich nicht wesentlich voneinander.

b) Pflanzeneigene Wuchsstoffe

Wie bereits erwähnt (Seite 8), erweisen sich solche *Bryophyllum*-Blätter gegenüber den mehrfach genannten beiden Bakterienstämmen als nicht mehr

anfällig, deren Brutknospen fertig ausgebildet bzw. abgefallen sind. Es war zu untersuchen, ob im Gegensatz zu den Mutterblättern die an ihnen haftenden Brutknospen disponiert sind oder ob sich die Disposition der Knospen erst einstellt, wenn sie zu selbständigem Wachstum übergegangen sind.

10. Versuchsreihe: Am 26. Juni 1952 wurde an 580 jüngeren und älteren Brutknospen, die noch an ihren Mutterblättern hafteten, jeweils das äußere, älteste Blatt nach der Nadelstichmethode mit Stamm II b beimpft (Gruppe 1 bis 4). 135 weitere Brutknospen erfuhren die für Gruppe 5 genannte Behandlung. Beim Abernten wurden die Knospen so entnommen, daß sich die Tochterpflänzchen aller zur Verfügung stehenden Mutterblätter gleichmäßig auf alle Gruppen verteilten. Weitere methodische Einzelheiten ergeben sich aus folgender Gruppenaufzählung:

Gruppe 1: 195 Brutknospen wurden sofort nach der Beimpfung abgeerntet und auf KNOP-Agar gebracht.
Ergebnis: Tumorbildung: 52 %;
Verhältnis von Tumorgewicht zu Blattgewicht: 0,7.

Gruppe 2: 150 Brutknospen wurden drei Tage nach der Beimpfung abgeerntet und auf KNOP-Agar gebracht.
Ergebnis: Tumorbildung: 75 %;
Verhältnis von Tumorgewicht zu Blattgewicht: 2,8.

Gruppe 3: 87 Knospen wurden sieben Tage nach der Beimpfung abgeerntet und auf KNOP-Agar gebracht.
Ergebnis: Tumorbildung: 80 %;
Verhältnis von Tumorgewicht zu Blattgewicht: 1,8.

Gruppe 4: 145 Brutknospen wurden beimpft und an der Pflanze belassen.
Ergebnis: Tumorbildung: 90 %;
Verhältnis von Tumorgewicht zu Blattgewicht: 1,8.

Gruppe 5: 135 Brutknospen wurden am 26. Juni auf KNOP-Agar gebracht und erst sieben Tage später beimpft.
Ergebnis: Tumorbildung: 3 %;
Verhältnis von Tumorgewicht zu Blattgewicht: 0,7.

Das für jede Gruppe oben mitgeteilte Ergebnis wurde am 2. August notiert. Da sich die Pflänzchen ihrer ungleichen Behandlung wegen verschieden stark entwickeln, sind die absoluten Tumorgrößen kein Maßstab für die Dispositionslage in den einzelnen Gruppen. Es wurde deshalb das Verhältnis von Tumorgewicht zu Blattgewicht errechnet. Da auch diese Auswertung nicht alle in Frage kommenden Faktoren berücksichtigt, kommt bei vorliegendem Ergebnis der Tumorhäufigkeit die größere Bedeutung zu.

Danach sind die ältesten Blättchen der Brutknospen so lange hoch disponiert, als sie am Mutterblatt haften (Gruppe 4); ihre Disposition geht nach der Trennung rasch verloren und ist bereits nach sieben Tagen praktisch erloschen (Gruppe 5). Dieser Dispositionsverlust ging mit dem Wurzelwachstum parallel.

Viele Autoren vertreten die Ansicht, daß Heteroauxine erst in Verbindung mit sogenannten Co-Stoffen wirksam werden. Auch die Tumordisposition scheint an gewisse Stoffe, vielleicht an dieselben Costoffe gebunden.

Diese werden offenbar bei der Wurzelbildung verbraucht und wandern aus den ältesten Blättchen der Knospen aus (86). Ein entsprechender Vorgang dürfte auch bei Blättern älterer Pflanzen vorliegen, die mit der fortschreitenden Entwicklung ihrer Brutknospen ihre Disposition verlieren (Seite 8).

c) Versuche, denen Wuchsstofftheorien des Pflanzenkrebses zugrunde liegen

Zwei Theorien messen den Heteroauxinen bei der Tumorbildung eine wesentliche Bedeutung bei. Nach der einen sollen es lediglich die bakteriellen Wuchsstoffe sein, die den Tumor induzieren (1), nach der anderen soll die Tumorbildung in zwei Phasen verlaufen (Seite 2). Die erstere fußt auf der Feststellung, daß hochdosierte, lokale IES-Applikationen bei verschiedenen Pflanzen Wucherungen auslösen und die Krebsbakterien diesen Wuchsstoff produzieren. Unter Ausnutzung der Tatsache, daß sich über 30° C keine Tumoren bilden (14, 70), läßt sich diese Theorie überprüfen: Verschwindet die kallogene Wirkung der IES bei Temperaturen von etwa 30 bis 32° C nicht und wird gleichzeitig die Fähigkeit der Bakterien, Heteroauxin zu bilden, in diesem Temperaturbereich nicht beeinträchtigt, so ist eine alleinige cancerogene Heteroauxinwirkung auszuschließen.

11. Versuchsreihe: In einem umfangreichen Vorversuch wurde zunächst die Feststellung von Braun (6, 7, 8), *Bryophyllum daigremontianum* bilde oberhalb 30° C keine Tumoren, nachgeprüft und bestätigt. Auch seine Angabe über die zur Induktion notwendige Zeit konnte ohne Einschränkung bestätigt werden. Somit erwies sich diese Pflanze als geeignetes Versuchsobjekt zur Klärung der aufgeworfenen Frage.

Es wurden sechs Gruppen, bestehend aus je 40 frisch geernteten Brutknospen, wie folgt behandelt (das Ergebnis nach 14tägiger Versuchsdauer wird für jede Gruppe gleich mitgeteilt):

Gruppe 1 a: Die Pflänzchen wurden an ihren Basalwülsten steril verwundet und auf wuchsstofffreien Knop-Agar gebracht (23 ± 3° C).

Ergebnis: Pflanzen etwas vergeilt (3,0 bis 4,5 cm hoch) — Basalwülste unverändert klein — Wurzelwachstum gut.

Gruppe 1 b: Wie Gruppe 1 a, Temperatur 31 ± 1° C.

Ergebnis: Pflanzen 2,5 bis 4,0 cm hoch — Basalwülste unverändert klein — Wurzelwachstum etwas gehemmt (Wurzeln nicht so zahlreich und kürzer als in 1 a).

Gruppe 2 a: Beim Verwunden wurden die Basalwülste mit dem vier Tage alten II b-Stamm beimpft und auf wuchsstofffreien Agar gepflanzt. Temperatur: 23 ± 3° C.

Ergebnis: Von 40 Knospen tragen 32 an ihren beimpften Basalwülsten relativ große Tumoren. An sechs tumortragenden Pflanzen ist jeweils eine Achselknospe des untersten Knotens zur Entwicklung gelangt. Wurzelwachstum gegenüber 1 a gehemmt.

Gruppe 2 b: Wie Gruppe 2 a, Temperatur: 31 ± 1° C.

Ergebnis: Keine Tumorbildung; im übrigen wie die Pflanzen der Gruppe 1 b, doch von schwächerem Wuchs.

Gruppe 3 a: Die an ihren Basalwülsten steril verwundeten Knospen wurden auf KNOP-agar gebracht, der zu 0,003 % IES-K-Salz enthielt. Temperatur: 23 ± 3 ° C.

Ergebnis: Wachstum gehemmt (2,0 bis 3,5 cm hoch) — Basalwülste deutlich angeschwollen und gebräunt — Wurzelwachstum gehemmt.

Gruppe 3 b: Wie Gruppe 3 a, Temperatur: 31 ± 1 ° C.

Ergebnis: Wurzel- und Sproßwachstum stark gehemmt (1,5 bis 2,5 cm hoch) — Basalwülste stärker verdickt als bei Gruppe 3 a und zum Teil abgestorben — darüber hinaus oft auch noch das erste Internodium angeschwollen.

Dieses Ergebnis bestätigt, daß die kallogene Wirkung der IES oberhalb von 30 ° C nicht verlorengeht. Die gegenüber Zimmertemperatur sogar erhöhte Wirkung der IES kann nicht die Ursache der temperaturbedingten Immunität sein, da selbst 2 %ige IES-Paste bei entsprechenden Versuchen die Tumorbildung nur schwach hemmte.

Nach diesen Ergebnissen kann die Behauptung, IES sei die alleinige Ursache des Pflanzenkrebses, erst entkräftet werden, wenn der Nachweis uneingeschränkter Wuchsstoffproduktion durch die Bakterien auch oberhalb 30 ° C erbracht ist:

12. Versuch: Zwei Erlenmeyerkolben von 1 Liter Inhalt wurden nach Füllung mit je 500 ccm Nährlösung (0,1 % $MgSO_4$ + 0,1 % Na_2HPO_4 + 0,1 % $CaCl_2$ + 1 % Pepton + 0,6 % Glukose) mit gleichen Mengen einer Suspension des II b-Stammes beimpft. Ein Kolben ist bei 26 °, der andere bei 31 ° C bebrütet worden. Die Suspensionen beider Kolben wurden nach 14 Tagen getrennt eingedampft und nach schwachem Ansäuern (H_2SO_4) ausgeäthert. Mit den Ätherrückständen wurde die Eisenchloridreaktion auf IES durchgeführt.

Da beim Vergleich der Farbintensitäten beider Lösungen mit Hilfe des Leifophotometers die Extinktionswerte innerhalb der subjektiven Fehlerbreite lagen, entfiel ein gesicherter Unterschied im IES-Gehalt der Lösungen. Auf eine Wiederholung des Versuches wurde verzichtet, da bereits BERTHELOT und und AMOUREUX (2) bei 30 ° C ein Optimum der IES-Produktion durch *B. tumefaciens* festgestellt hatten. Demnach wäre gegenüber 26 ° C bei 31 ° im Einklang mit der Temperatur-Wachstumskurve von PINCKARD (67) eher eine Erhöhung des Wuchsstoffgehaltes zu erwarten.

Die Ergebnisse der Versuche 11 und 12 machen eine alleinige oder dominierende Wirkung der IES bei der Induktion des Pflanzenkrebses unwahrscheinlich; infolgedessen scheint die Zweiphasentheorie von BRAUN und LASKARIS (12) an Bedeutung zu gewinnen. Diese Autoren vermochten mit avirulenten Bakterien echte, große Tumoren zu erzielen, wenn sie die Versuchspflanzen 2 bis 3 cm oberhalb der Impfstellen dekapitierten und auf die erhaltenen Schnittflächen Heteroauxinpasten auftrugen. Hieraus folgerten sie, daß die Tumorbildung in zwei Phasen verlaufe. Die erste Phase bestehe in der eigentlichen Induktion, die auch avirulente Bakterien zustande bringen; die zweite in der Vermehrung der schon entarteten Zellen. Dieses Wachstum des Tumors vollziehe sich nur unter der Einwirkung von Wuchsstoffen, die zu

bilden avirulente Bakterien nicht fähig seien. Das Ausbleiben der Tumorbildung nach Beimpfungen mit avirulenten Stämmen gehe auf Wuchsstoffmangel zurück, der den Ablauf der zweiten Phase verhindere.

Diese Folgerung ist nicht zwingend: Die experimentellen Ergebnisse der Autoren können durch die Annahme erklärt werden, daß Heteroauxine die Disposition der Tomatenzellen gegenüber avirulenten Bakterien erhöhen. Bei dieser Annahme würden im Gegensatz zur Zweiphasentheorie avirulente Stämme nur solche Zellen induzieren, die unter dem dispositionserhöhenden Einfluß von Heteroauxinen stehen. Da unter der Einwirkung von Heteroauxinen die Wundheilung länger anhält und intensiver verläuft, ist im Hinblick auf die bisher erhaltenen Ergebnisse eine solche Erhöhung der Disposition durch diese Wuchsstoffe durchaus wahrscheinlich.

Die Disposition ist ein an der Induktion maßgebend beteiligter Faktor, die erst später einsetzende Vermehrung der Krebszellen ist nach der Zweiphasentheorie unabhängig von der Induktion. Diese ist spätestens fünf Tage nach der Infektion abgeschlossen (7, 14), ein Umstand, der die aufgeworfene Frage zu beantworten gestattet: Führt eine frühestens fünf Tage nach der Infektion mit avirulenten Stämmen (das ist nach beendeter Induktion) erfolgte Wuchsstoffapplikation zur Tumorbildung, so ist die IES nicht maßgebend an der Induktion beteiligt. Das Auftreten von Tumoren nach Beimpfung mit avirulenten Stämmen in Verbindung mit Heteroauxinen wäre dann nicht die Folge einer Dispositionserhöhung durch diese Stoffe. Die Zweiphasentheorie wäre bestätigt. Bilden sich aber nur dann Tumoren, wenn die Paste vor oder während der Induktionszeit, d. h. spätestens fünf Tage nach der Infektion aufgetragen wird, so wirken die Heteroauxine bei der Induktion durch Erhöhung der Disposition mit. Die dritte Möglichkeit, die Identität der IES mit dem Cancerogen, dürfte im Hinblick auf die Ergebnisse der Versuchsreihen 11 und 12 ausgeschlossen sein.

Eine Entscheidung zwischen den beiden erstgenannten Möglichkeiten sollten die folgenden Untersuchungen bringen.

13. Versuchsreihe: 82 Tomatenpflanzen (Sorte Lukullus), die bei Versuchsbeginn 20 bis 30 cm hoch waren, wurden am 4. August 1952 zwischen dem zweiten und dritten Knoten dekapitiert. Der verwendete D-Stamm war nach VAN LANEN, BALDWIN und RIKER (52) avirulent gemacht worden. Er hatte nach 15 Passagen über glyzinhaltigen Nährboden so weitgehend seine Virulenz verloren, daß er an Tomateninternodien keinerlei Wucherungen mehr hervorrief. Mit ihm wurden 70 Sprosse 2 bis 3 cm unterhalb ihrer Dekapitationsschnittflächen beimpft, indem sie je einmal mit einer infizierten Nadel durchstochen wurden. Diese Beimpfung unterblieb bei den restlichen zwölf dekapitierten Pflanzen, die zur Kontrolle nur steril durchstochen wurden (Gruppe 4). Das gesamte Pflanzenmaterial wurde nach dieser Vorbehandlung in sechs Versuchsgruppen geteilt, die sich in der weiteren Behandlung wie folgt unterschieden:

Gruppe 1: 72 Stunden nach der Beimpfung wurde auf die Dekapitationswunden (= DkW) von 13 Pflanzen Wasserpaste aufgetragen.

Gruppe 2: 72 Stunden nach der Beimpfung wurde auf die DkW von 13 Pflanzen 1 %ige IES-Paste gebracht.

Gruppe 3: 72 Stunden nach der Beimpfung wurden auf die DkW von 12 Pflanzen virulente Bakterien gebracht.

Gruppe 4: 72 Stunden nach der sterilen Verwundung wurden auf die DkW von 12 Pflanzen virulente Bakterien gegeben.

Gruppe 5: 168 Stunden nach der Beimpfung wurde auf die DkW von 19 Pflanzen 1 %ige IES-Paste gebracht.

Gruppe 6: 168 Stunden nach der Beimpfung wurden auf die DkW von 13 Pflanzen virulente Bakterien gebracht.

Vor jeder Applikation wurde die Dekapitationswunde erneuert, indem mit einem Rasiermesser eine etwa 1 mm dicke Scheibe vom oberen Ende des Sproßstumpfes abgeschnitten wurde. — Am 11. August wurden nur die austreibenden Achselknospen entfernt, so daß sich später an vielen Pflanzen kräftige Achseltriebe entwickelten.

Trotz sechswöchiger Versuchsdauer bildeten sich an den mit dem glyzinavirulenten Stamm beimpften Stellen in keinem Falle Wucherungen. (Die tumorinduzierende Fähigkeit des geschwächten D-Stammes wurde durch die IES ebensowenig beeinflußt wie die seines virulenten Bruderstammes [Seite 17].) Weder die Kallusbildung erheblich steigernde 1 %ige Wuchsstoffpaste (Gruppe 2, 5) noch rasch wachsende Tumoren auf den Dekapitationswunden (Gruppe 3, 6) konnten in Verbindung mit avirulenten Bakterien an den darunterliegenden Impfwunden Tumoren hervorrufen.

Dieses Resultat bestätigt nicht die Ergebnisse von BRAUN und LASKARIS (12), die zur Zweiphasentheorie führten, und erlaubt somit auch keine Antwort auf obige spezielle Fragestellung. Ein zweiter Versuch mit der gleichen Anzahl jüngerer Tomaten ließ ebenfalls keinen Einfluß der IES auf die Tumorbildung durch den glyzinavirulenten Stamm erkennen.

Der Widerspruch zwischen dem hier vorliegenden Ergebnis und jenem von BRAUN und LASKARIS läßt sich zunächst darin erklären, daß die Virulenz eines glyzingeschwächten Stammes anderer Art sein könnte als die von Stämmen, welche von Natur aus avirulent sind (vgl. 91). Ferner scheinen die für vorliegenden Versuch verwendeten Bakterien in größerem Maße avirulent zu sein als der von BRAUN und LASKARIS verwendete Stamm A 66, der noch schwache Proliferationen an Tomateninternodien hervorrief.

III. Diskussion

Wir gehen von der Annahme aus, daß der Induktionsmechanismus, der die bakteriell bedingten krebsigen Wucherungen bei den verschiedenen anfälligen Pflanzenarten einleitet, stets der gleiche ist. Diese Voraussetzung ist keineswegs selbstverständlich, zumal die induktive Fähigkeit eines bestimmten Erregerstammes in wechselseitiger Beziehung zur Reaktionsweise der infizierten Pflanzenart steht (89, 91).

1. Die Verwundung als Faktor der Disposition

Nach den Ergebnissen der Versuchsreihen 1 bis 4 kommt der Verwundung bei der bakteriellen Krebsbildung eine weitaus wichtigere Aufgabe zu, als lediglich Eingangspforte für den Erreger zu sein.

Black (4, 45) vertritt für den virusbedingten Pflanzenkrebs dieselbe Auffassung. Die von diesem Autor untersuchten malignen Wucherungen stimmen weitgehend mit dem bakteriellen Krebs überein, treten jedoch fast nur an Wurzeln auf. Dort können sie nicht nur durch sterile Nadelstiche an infizierten Pflanzen erzeugt werden, sondern bilden sich auch spontan an Stellen, wo Seitenwurzeln die Rinde durchbrechen. Die ihnen entsprechenden bakteriellen Sekundärtumoren bilden sich dagegen an Orten, für die nicht immer eine wachstumsbedingte Verwundung nachgewiesen ist. Manche Autoren sind deshalb der Ansicht, daß zur Induktion der Sekundärtumoren eine Anhäufung der Bakterien in den Interzellularen oder Gefäßen ausreiche.

Nach de Ropp (79) und Braun (7) aber soll die Verletzung der einzelnen Zellen, der innige Kontakt bloßgelegter, doch weiterlebender Protoplasten mit den Bakterien von ausschlaggebender Bedeutung sein. Nun ist ein Bloßlegen des Protoplasten mit darauffolgender Restitution der Zelle nach mechanischer Verwundung (einschließlich Temperaturschädigung) durchaus möglich, sehr fraglich jedoch bei lokaler Einwirkung von Ätzkali (Versuchsreihe 8):

Die Konzentration der Lauge ist unbedeutend; sie beeinflußt die Wundgröße, nicht aber die Verhältnisse an der konzentrisch zur Applikationsstelle verlaufenden Grenze, die die lebenden Zellen von den toten trennt. — Ob in diesem Grenzbereich Zellen vorkommen, wie sie von de Ropp und Braun als Voraussetzung zur Induktion angesehen werden? Dies ist der Fall, wenn die Konzentration der Lauge in diesem Grenzbereich einerseits so stark ist, daß sie die Zellwand zumindest an einer Stelle restlos auflöst, andererseits so schwach ist, daß sie den darunterliegenden Protoplasten nicht vollkommen abtötet.

Ein solcher Grenzfall erscheint wegen der hohen Resistenz der Zellulose gegenüber Alkalien sehr fraglich. Selbst konzentrierte KOH vermag die Zellulose nicht zu zersetzen, sondern verursacht lediglich ein Anschwellen der Zellulosefaser (101). Läßt man die Lamellenstruktur der Membran (101) unberücksichtigt, so könnten die Bakterien dort eindringen, wo Pektine bzw. Hemizellulosen von der Lauge aufgelöst werden. Da jedoch ein solcher Auflösungsprozeß eine gewisse Mindestkonzentration an OH-Ionen voraussetzt, wären die betroffenen Protoplasten zumindest dieser für sie sicherlich noch toxisch wirkenden Mindestkonzentration ausgesetzt.

Meines Erachtens sind die Protoplasten infolge ihrer größeren Empfindlichkeit durch die leicht eindringende Lauge bereits abgetötet, bevor Zersetzungsvorgänge an der Membran eintreten. Nach Hildebrandt, Riker und Duggar (40) sowie Gautheret (29) wirken Nährmedien, deren pH größer als 10 ist, bei Gewebekulturen schon toxisch. Diese OH-Ionenkonzen-

tration, einer $^1/_{10000}$ n Lauge entsprechend, dürfte für ein Bloßlegen der Protoplasten nicht ausreichen.

Im Hinblick auf diese Überlegungen führt die Tumorbildung an infiltrierten *Bryophyllum*-Blättern durch lokale Laugenätzung zu folgenden Schlüssen:

1. Der Kontakt zwischen Protoplast und Bakterium ist keine notwendige Voraussetzung zur Tumorinduktion.
2. Die Krebszelle ist während und nach der Induktion frei von Bakterien.

Somit erhebt sich die Frage, welche Rolle die als unerläßlich befundene Verwundung eigentlich spielt. Es seien deshalb zusammenfassend die wesentlichen Folgeerscheinungen einer Verwundung daraufhin untersucht, ob sie maßgebend an der Tumorbildung beteiligt sein können:

1. Die Wunde könnte dem Erreger lediglich als Eingangspforte dienen. Nach Versuchsreihe 1 aber waren zahlreiche interzellulär vorkommende Bakterien selbst nach zwölfwöchiger Dauer nicht in der Lage, einen Tumor zu induzieren.
2. Der Wundsaft verbessert die Lebensbedingungen der Bakterien, gestattet ihre Vermehrung und könnte dadurch für die Induktion von Bedeutung sein.

   Nach Versuchsreihe 3 tritt trotz genügender Nahrungsversorgung der interzellulären Bakterien keine Tumorbildung ein.
3. Der Wundsaft könnte das Ausgangsprodukt darstellen, aus dem die Bakterien das Krebsagens produzieren, bzw. als Nekrohormon an der Krebsbildung beteiligt sein (39).

   Nach Versuchsreihe 4 können Infiltrationen pflanzeneigener Preßsäfte die Verwundung nicht ersetzen. Trotzdem könnten die Bakterien aus pflanzlichen Abbaustoffen das Krebsagens bilden, das aber hier mangels Wunddisposition nicht wirksam würde.
4. Die durch Verwundung bloßgelegten Protoplasten könnten eine Voraussetzung der Induktion sein.

   Es bilden sich jedoch auch Tumoren nach KOH-Ätzung (Versuchsreihe 8), eine Schädigungsart, die meines Erachtens keine lebensfähig bleibenden Protoplasten bloßlegt.
5. Die Ausbildung eines Wundkallus könnte einen Faktor der Tumorinduktion darstellen.

   Ältere Stadien der Wundheilung haben keinen Einfluß auf die Induktion, da die Dispositionszeit, etwa 15 Stunden nach der Verwundung beginnend, nur etwa 100 Stunden währt (6, 8).

Während für die Ausbildung von Tumoren die angeführten Gesichtspunkte als nicht wesentlich erkannt worden sind, verbleiben noch drei weitere charakteristische Folgeerscheinungen der Verwundung, die in engem Zusammenhang mit der Induktion des Pflanzenkrebses zu stehen scheinen:

1. Durch die Verwundung werden Korrelationen zu Nachbarzellen unterbunden.
2. Wundnahe ruhende Zellen werden wieder teilungsfähig.
3. Die neugebildeten Zellen sind zeitweilig korrelationsfrei.

Diese drei Punkte scheinen kausal miteinander verbunden zu sein: Korrelationsverlust führt zu erneuter Teilungsfähigkeit und damit zu mehr oder weniger meristematischen, korrelationsfreien Zellen. Diese Beziehungen erschweren die Suche nach dem verantwortlichen Hauptfaktor.

„Wenn Zellen zu Restitutionsleistungen schreiten und wieder embryonal werden, verlieren sie ihre Polarität und müssen neu induziert werden" (16). — Solche ihrer Determination harrender Zellen, die zudem noch unter dem stimulierenden Einfluß bakterieller Wuchsstoffe stehen, befinden sich offenbar in einem äußerst labilen und induktionsempfindlichen Zustand, der meines Erachtens mit der Wunddisposition (62) identisch ist. Denn es ist wahrscheinlich, daß Zellen dieses Stadiums, das übereinstimmend mit der Dispositionszeit, etwa 15 Stunden nach der Verwundung beginnend, etwa 100 Stunden währt, unter der Einwirkung des Krebsagens alterieren. Die Alteration kann zwanglos gedeutet werden als ein Sensibilitätsverlust gegenüber korrelativen Hemmungen: Aktivierung und Entdifferenzierung der Zelle, die bei reiner Verwundung unter korrelativ gezügelter Kallusbildung verebben, werden (u. a.) zu bleibenden Eigenschaften des Tumors (vgl. 43 mit 30, 78).

2. Krebsagens

Manche Autoren (14, 75, 78, 79) halten das Krebsagens für ein virusähnliches, thermolabiles Prinzip. Diese Vermutung konnte jedoch weder durch Pfropfversuche bestätigt werden, noch gelang es, mit Gewebebrei aus sterilen Sekundärtumoren erneut Tumoren zu erzielen (13). Ferner mißlangen Versuche, mit Tumor- oder Bakterienextrakten echte Tumoren auszulösen (41, 71). Wucherungen, die durch solche Extrakte an empfindlichen Objekten erzielt werden (1, 15, 25, 56), dokumentieren sich bei Pfropfungen und in vitro (74, 75) nicht als Tumoren, sondern als wuchsstoffbedingte Kalli begrenzten Wachstums. Denn solche Extraktionen führen zu einer Anreicherung von Wuchsstoffen bakteriellen bzw. pflanzlichen Ursprungs (1, 2, 57, 59), besonders wenn das Extraktionsmaterial in solchen Mengen verarbeitet wird, wie es die Regel ist.

Man muß deshalb mit der Möglichkeit rechnen, daß das krebserregende Prinzip von den lebenden Bakterien aus Zelltrümmern frischer Wunden gebildet wird. Dann würde die Verwundung nicht nur zu der spezifischen und notwendigen Disposition führen; die Wundzellen wären auch Quelle der pflanzeneigenen Abbaustoffe, die von den Bakterien zum Krebsagens umgewandelt würden.

Diese Auffassung erklärt nicht nur die Ergebnisse der Extraktionsversuche, sie macht auch die Feststellung von DE ROPP (76) verständlich, wonach meristematische Zellen trotz innigem Konnex mit virulenten Bakterien nicht

alterieren; in diesem Falle fehlte der Wundsaft und somit die Vorstufe des Krebsagens.

Jedenfalls erscheint der Hinweis auf eine eventuelle Beteiligung der pflanzeneigenen Abbauprodukte berechtigt, da solche Stoffe nach MARQUARDT (63) die Mutationsrate erhöhen und eine Mutation als Ursache des Pflanzenkrebses trotz der Ergebnisse BRAUNS (11) in Betracht gezogen werden darf (siehe „Komplexstrukturen"). Zudem könnten Abbauprodukte des arteigenen Plasmas und der Kernsubstanz bevorzugt spezifisch auf Plasma und Kern intakter Zellen einwirken.

Abschließend sei der Vorgang der Tumorbildung unter Berücksichtigung aller bisherigen Ergebnisse und dargelegten Auffassungen zusammengefaßt:

1. Wundhormone und bakterielle Wuchsstoffe stimulieren die ihrer Korrelationen teilweise entbundenen wundnahen Zellen, so daß diese meristematischen Charakter annehmen und ihre Polarität verlieren, womit die notwendige Krebsdisposition erreicht ist.
2. Frühestens 15 Stunden nach erfolgter Verwundung und Infektion hat sich aus Kern- oder Plasmaresten unter der Einwirkung der Bakterien das Cancerogen in der wirksamen Konzentration gebildet.
3. Dieses wirkt auf die meristematisch gewordenen Zellen ein und macht sie für spätere Determinationen im Sinne jeglicher Differenzierung untauglich.
4. Die weitere Vermehrung ist eine Eigenschaft einer korrelationsfreien meristematischen Zelle, auch der Krebszelle, und bedarf keiner besonderen Erklärung.
5. Wirkt das Cancerogen erst fünf Tage nach der Verwundung auf die entsprechenden Zellen ein, so sind diese bereits wieder determiniert, ihre Disposition ist erloschen.

3. Wuchsstoffe und Tumorbildung

Nach KANDLER (43), KULESCHA und GAUTHERET (51) unterliegt das Wachstum i n v i t r o dem gleichen jahreszeitlichen Rhythmus wie i n v i v o. Nach KULESCHA (49) und SÖDING (86) existiert eine Parallelität zwischen dieser Rhythmik und dem Wuchsstoffgehalt, derart, daß die Zellneubildung mit dem natürlichen Heteroauxingehalt der Gewebe ansteigt. Demnach scheinen Heteroauxine die Aktivität normaler Gewebe zu steuern. Diese Folgerung liegt der Versuchsreihe 9 zugrunde. Hier wurde versucht, durch Heteroauxingaben die Aktivität und somit auch die Krebsbereitschaft älterer, wuchsstoffarmer, nur schwach zur Tumorbildung neigender Blätter von *K. Blossfeldiana* zu erhöhen. Es fand jedoch bei den behandelten Blättern weder eine Steigerung der normalen Wundreaktionen (ausgenommen junge, krebsanfällige Blätter) noch eine Erhöhung der Disposition statt.

Dieses Ergebnis steht in gutem Einklang mit der Ansicht, wonach Heteroauxine vor allem auf Meristeme wirken (30, 87), und rechtfertigt auch die Auffassungen jener Autoren (26, 27, 42, 57, 97), die den Heteroauxinen keine

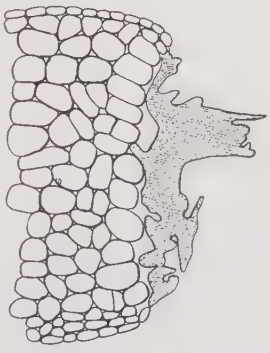
direkte Wirkung zuschreiben. Nach dieser Auffassung sind für das Wirksamwerden der IES noch unbekannte pflanzeneigene Stoffe, sogenannte Co-Stoffe notwendig. Vermutlich stellen diese Stoffe spezifisch Eiweiße dar, die als Coferment fungieren und die IES als Apoferment tragen (96, 100) (oder sind es Auxine? 35, 86).

Mit Hilfe der „Costofftheorie" erscheint eine Deutung unserer Ergebnisse einfach: Die Tumorbildung ist an die Gegenwart der gleichen Costoffe (bzw. Auxine) gebunden wie das Wirksamwerden der IES (vgl. 74). Die Costoffe fehlen im Gewebe älterer Blätter. Zu suchen sind sie dort, wo Heteroauxine in besonderem Maße wirksam werden, nämlich in meristematischen Geweben. Die scharfe Grenze zwischen disponiertem und nichtdisponiertem Gewebe, wie sie im Falle reife Brutknospe und Mutterblatt vorliegt (Versuchsreihe 10), zeigt an, daß diese Stoffe nicht aus der Brutknospe in das Blatt wandern können.

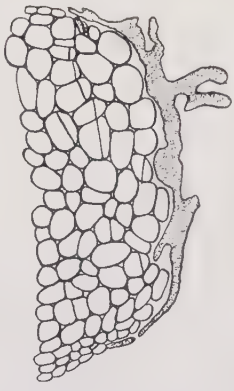
Diese auf der „Costoff"-Theorie basierende Deutung wird überflüssig, wenn für das Wirksamwerden der IES und die Tumordisposition ein gewisser Grad des Meristimatischseins vorausgesetzt wird. Dadurch wird aber die Frage vernachlässigt, ob das Meristematischsein als Organisationsmerkmal auftritt oder letztlich doch Ausdruck eines (co-) stofflichen Einflusses ist.

Eine andere Erklärungsmöglichkeit für die „Immunität" älterer Blätter wurde in einem eventuellen Unterschied der Wundheilung gegenüber jungen Blättern gesucht. Ein solcher konnte auch in den Abb. 12 bis 15 festgestellt werden, vor allem in bezug auf das Erscheinen der ersten Teilungswände. (Entsprechendes wurde auch bei tierischem Gewebe beobachtet [64].)

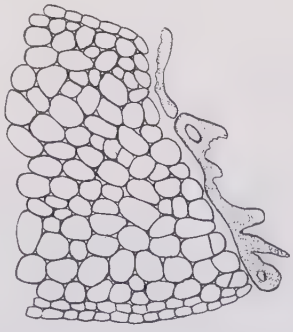
Abb. 12—15. Stadien der Wundheilung von alten (a-Serie) und jungen (b-Serie) *Bryophyllum*-Blättern. 12 a und 12 b: 48, 13 a, b: 72, 14 a, b: 96, 15 a, b: 120 Stunden nach der Verwundung



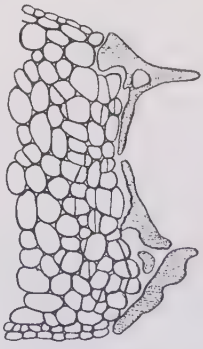
12 a: 48 Stunden nach der Verwundung (alt)



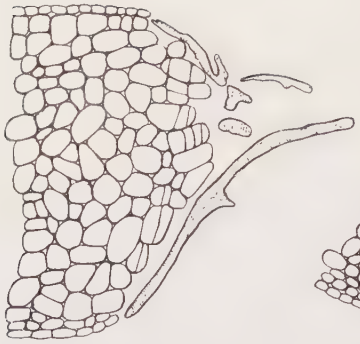
12 b: 48 Stunden nach der Verwundung (jung)



13 a: 72 Stunden nach der Verwundung (alt)

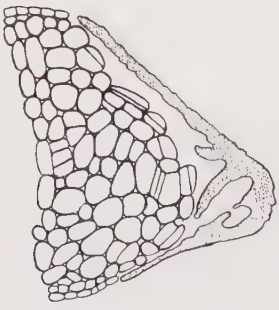


13 b: 72 Stunden nach der Verwundung (jung)



14 a: 96 Stunden nach der Verwundung (alt)

14 b: 96 Stunden nach der Verwundung (jung)



15 a: 120 Stunden nach der Verwundung (alt)

15 b: 120 Stunden nach der Verwundung (jung)

Würde eine solche Verzögerung der Wundheilung die „Immunität" bedingen, so wäre auch hier durch Heteroauxingaben eine Erhöhung der Krebsbereitschaft zu erwarten: Nach JOST (42) treten unter dem Einfluß von Heteroauxin an wuchsstoffempfindlichem jüngerem Gewebe die ersten Phasen der Wundheilung früher ein als bei den Kontrollen. Nach Versuchsreihe 9 gelingt es aber nicht, die Krebsbereitschaft älteren Blattgewebes durch IES-Gaben zu erhöhen. — Meines Erachtens geht mit der verzögerten Wundheilung die Unempfindlichkeit gegenüber IES einher, beides als Ausdruck einer allgemeinen altersbedingten Passivität, die die eigentliche Ursache der „Immunität" darstellt. Bei Anwendung der Costofftheorie wäre diese Passivität durch Costoffmangel bedingt.

4. Wuchsstofftheorien des Pflanzenkrebses

In jüngster Zeit hat vor allem APPLER (1) das Heteroauxin als den alleinigen und ausschlaggebenden Faktor bei der Induktion des Pflanzenkrebses bezeichnet. Als Beweise seiner Behauptung führt er u. a. an, daß einerseits hochdosierte Heteroauxinpasten, auf die Wundflächen dekapitierter Sonnenblumen appliziert, starke kallöse Wucherungen („Heterotumoren") hervorrufen und andererseits *B. tumefaciens* Tryptophan zu IES umbauen kann (2).

Eine solche Behauptung ist nur haltbar, wenn die Tumorinduktion mit dem von GAUTHERET beschriebenen „effet d'accoutumance" (Seite 2) oder einem ähnlichen Vorgang identisch ist; sind doch bei sterilen Sekundärtumoren keine Bakterien mehr vorhanden, die als Wuchsstoffproduzenten dienen könnten. APPLER schreibt: „Durch die vom *B. tumefaciens* verursachte Heteroauxinbildung entsteht ein Überschuß dieses Stoffes in der befallenen

Wirtszelle (!) ... Schließlich wird in der Zelle ein Stadium erreicht, in dem der Wuchsstoffüberschuß als Toxin zu wirken beginnt. Dabei wird dann das Wuchsstoffermentsystem der Wirtszelle an irgendeiner Stelle irreversibel umgeworfen ... damit ist wohl gleichzeitig die Stimulation einer normalen Zelle in eine Krebszelle vollzogen. Die Bakterien sind nunmehr ohne jede weitere Bedeutung für die Krebszelle."

Von dieser schwer verständlichen Diktion abgesehen, geht der Autor von einem intrazellulären Vorkommen des Erregers aus. Diese Voraussetzung ist umstritten (69, 82) und in Frage zu stellen (Seite 24).

Appler schreibt ferner: „Daß bei dem ganzen Vorgang das von den Bakterien erzeugte Heteroauxin die wichtigere Rolle innehat, geht daraus hervor, daß avirulente Kulturen nicht in der Lage sind, Heteroauxin zu bilden (Dame, 21, 1938). Die cancerogene Eigenschaft des Bakteriums steht und fällt also mit dem Vermögen oder Unvermögen der Heteroauxinproduktion."

Meines Erachtens spielen die bakteriellen Wuchsstoffe eine nur untergeordnete Rolle. Sie können ein Faktor der Disposition sein, sind aber keineswegs mit dem Cancerogen identisch. Folgende Tatsachen sprechen für diese Ansicht:

1. Wucherungen, die durch IES-Paste in vivo hervorgerufen werden, erweisen sich bei Propfversuchen und in vitro nicht als krebsig (12, 99); sie sind von begrenztem Wachstum (25, 79) und differenzieren sich (53, 54, 74, 99).
2. Bei Pfropfungen in vitro erwiesen sich Gewebe mit dem „effet d'accoutumance" nicht eindeutig als krebsig (17, 19, 20).
3. Der „effet d'accoutumance" ist bisher nur in vitro beobachtet worden, das Bakterium aber induziert in vitro (33, 47, 48) und in vivo.
4. Gautheret (28), Morel (65) und Kandler (44) beobachteten den genannten Effekt nur in sehr seltenen Fällen und an Fragmenten, die mindestens sechs Monate lang auf IES-haltigen Medien kultiviert worden sind; die Induktion durch *B. tumefaciens* dagegen vollzieht sich fast 100 %ig innerhalb von rund 70 Stunden (7, 8, 14).
5. „Heteroauxintumoren" bilden sich auch bei Temperaturen um 31 ° C, bei denen keine bakteriellen Tumoren zur Entwicklung kommen. Dieser Unterschied geht nicht auf eine temperaturabhängige Wuchsstoffproduktion der Bakterien zurück (Versuchsreihen 11 und 12).
6. Die Wirkung der IES auf gewisse Pflanzenarten geht nicht parallel mit deren Tumoranfälligkeit; z. B. reagieren *Coleus* und *Impatiens* (58), *Artischoke* (79) und eine Bohnensorte (21) auf IES nicht mit Wucherungen, wohl aber gegenüber *B. tumefaciens* mit Krebsbildung.
7. Wuchsstoffwucherungen sind abhängig von den Polaritätsverhältnissen ihrer Bildungsstätten, Bakterientumoren dagegen nicht (79).
8. Bakterientumoren bilden sich nur, wenn die Infektion in vivo spätestens fünf Tage (7), in vitro spätestens sieben Tage (76) nach der Verwundung eintritt, während IES auch ohne Verwundung wirksam ist (38, 79).
9. Viele Bakterien bilden Wuchsstoffe (60, 86), doch Krebs erregt nur *B. tumefaciens*.
10. Die Mehrzahl der Autoren (21, 41, 58, 60) konnte keine Unterschiede zwischen der Heteroauxinproduktion virulenter und avirulenter Bakterien feststellen.
11. Tumorgewebe besitzt die Fähigkeit, gesundem Nachbargewebe Nährstoffe zu entziehen, Wuchsstoffwucherungen dagegen nicht (79).

Nach der Ansicht APPLERS führen avirulente Bakterien mangels IES weder zur Induktion noch zur Zellvermehrung, nach der Zweiphasentheorie induzieren sie zwar den Krebs, stimulieren jedoch mangels Wuchsstoffen die entarteten Zellen nicht zur Teilung. Beide Theorien setzen voraus, daß virulente Bakterien Wuchsstoffe bilden, avirulente dagegen nicht. Die Vertreter beider Theorien betrachten diese Voraussetzung als gesichert und verweisen auf DAME (21), der in den Kulturmedien von drei avirulenten Stämmen keine Wuchsstoffe nachweisen konnte, während drei virulente Stämme sich durch Wuchsstoffproduktion auszeichneten. Als weitere Stütze gilt die Tatsache, daß mit virulenten Stämmen beimpfte Pflanzen die im Abschnitt II, 3 genannten Wuchsstoffreaktionen zeigen, während dieselben an Pflanzen, die mit avirulenten Stämmen beimpft werden, weitgehend unterbleiben.

Diese Beweisführung dürfte kaum ausreichen. Die Wuchsstoffreaktionen tumortragender Pflanzen werden eher durch tumoreigene als durch bakterielle Wuchsstoffe angeregt, da auch bakterienfreies Tumorgewebe über einen hohen Wuchsstoffgehalt verfügt (75). Die Wuchsstoffeffekte scheinen insofern mittelbar virulenzbedingt, als sie eine Folge des Tumorwachstums sind, das nach Impfungen mit avirulenten Bakterien ausbleibt. Zudem ist nach den gut fundierten Ergebnissen von HILDEBRANDT, RIKER und DUGGAR (41) und von LOCKE, RIKER und DUGGAR (58, 60) die Abhängigkeit der Virulenz von der Wuchsstoffproduktion sehr in Frage gestellt. — Die Voraussetzung für beide Wuchsstofftheorien kann deshalb nicht als gesichert angesehen werden.

Heteroauxine dürften ursächlich am Pflanzenkrebs nicht beteiligt sein. Da sie die Wundheilung als vermutlichen Faktor der Disposition stimulieren, könnten sie auf diese Art die Disposition wesentlich erhöhen. — Sollte das Cancerogen mutativ wirken, so wäre ein dispositionserhöhender Einfluß der IES schon deswegen zu erwarten, weil mit steigender Teilungsrate die Wahrscheinlichkeit einer Mutation zunimmt.

Im gleichen Sinne läßt sich nach DE ROPP (79) der „effet d'accoutumance" erklären: In keinem unmittelbaren Zusammenhang mit der bakteriellen Krebsbildung stehend, soll er wahrscheinlich auf eine Erhöhung der Mutationsrate zurückgehen, die, im Gegensatz zur bakteriellen Induktion, ohne jeden beabsichtigten und erkennbaren äußeren Einfluß zu einer selten auftretenden „zufälligen" krebsigen Entartung führt.

Meines Erachtens ist dieser Effekt die Folge einer langwährenden übernormalen Heteroauxinkonzentration, die keine Differenzierung zuläßt, so daß das Gewebe (frühestens nach sechs Monaten) schließlich die Fähigkeit sich zu differenzieren verliert.

5. Sekundärtumoren

Als BRAUN (5) junge Sonnenblumen mit dem schwach virulenten Stamm A 6 beimpfte, beobachtete er mitunter Sekundärtumoren, ohne daß sich an der Impfstelle ein Primärtumor gebildet hatte. Es kam also entgegen der hier vertretenen Vorstellung zur Krebsbildung anscheinend ohne Verwundung.

Nach dieser Beobachtung hält es BRAUN für möglich, daß sich der Induktionsmechanismus der Sekundärtumorbildung von jenem der Primärtumorbildung unterscheidet. Meines Erachtens dürfte wie bei der Primärtumorbildung auch hier die Verwundung die Tumorbildung auslösen und die Beobachtung von BRAUN wie folgt zu erklären sein:

Bei der Beimpfung wird die Pflanze an einer Stelle angestochen, die für den verwendeten Stamm nicht disponiert ist (vgl. Versuchsreihen 9 und 10). Die Bakterien gelangen in die Gefäße, wo sie verschleppt werden (77, 92, 95) und sich anfangs vermehren können (8). Längs dieser Gefäße wird das Nachbargewebe von den bakteriellen Wuchsstoffen zu Teilungen angeregt. In besonders wuchsstoffempfindlichen Gewebebezirken kommt es hierbei zu inneren Zerreißungen, an denen sich bei Gegenwart der Bakterien Sekundärtumoren bilden. Hierbei sei dahingestellt, ob „Tumorstrands" lediglich von normalen, stimulierten Zellen gebildet werden oder aus an Längsrissen sich bildenden Krebszellen.

Diese Vorstellung der Sekundärtumorbildung im allgemeinen und der Sekundärtumorbildung durch schwach virulente Bakterien im besonderen stützt sich auf folgende Tatsachen:

1. Bei Pflanzen, die auf Heteroauxin mit Wucherungen reagieren und auch krebsanfällig sind, decken sich die Einwirkungsbereiche beider Agenzien (79). Es sind in hohem Maße disponierte Bezirke, in denen die bakteriellen Wuchsstoffe zu Wucherungen und Zerreißungen führen. Zufolge dieser besonderen Krebsbereitschaft ermöglichen auch schwach virulente Bakterien die Tumorbildung. — Dieses Zusammentreffen von Wuchsstoffsensibilität und Krebsdisposition finden wir nicht nur bei verschiedenen Abschnitten der gleichen Pflanze, sondern auch beim Vergleich verschiedener Pflanzenarten. So neigen Sonnenblume und Tomate als besonders wuchsstoffempfindliche Pflanzen in erhöhtem Maße zu spontaner Sekundärtumorbildung.
2. Wuchsstoffpasten, von *B. tumefaciens* produzierte Wuchsstoffe und Wuchsstoffe wachsender Tumoren können auf größere Entfernungen hin Wucherungen auslösen, die, besonders bei der Sonnenblume (5, 25), oft zu Gewebezerreißungen führen (21, 32, 46, 56, 78). Diese Wucherungen sind meist endogen entstehende Wurzelanlagen, die die Rinde durchbrechen (86).
3. BRAUN (5) schreibt: „Im frühesten Entwicklungsstadium des Tumorstrand wurden Xylemzellen, die bestimmte Gefäße unmittelbar umgeben, zur Ausdehnung angeregt. Diese fuhren fort sich zu vergrößern und streckten sich oft in radialer Richtung, wobei sie die Kante des Gefäßbündels l o s b r a c h e n (!) und sich in das Mark zwängten. Diese Beobachtung macht wahrscheinlich, daß sich der ‚Strand' auf Grund eines Reizes entwickelt, der von den Xylemgefäßen ausgeht und in lateraler Richtung wirkt. .... Bemerkenswert ist auch, daß in vielen Fällen solche Xylemgefäße, von denen der Stimulus auszugehen scheint, gelblich oder braun gefärbt sind."

4. Von Bedeutung ist auch die Beobachtung von BRAUN, nach der Sekundärtumoren stets Auswüchse von Tumorstrands darstellen, ohne mit Primärtumoren in Verbindung zu stehen.

Nach dieser Darstellung dürfte auch der Induktion von Sekundärtumoren stets eine Verwundung vorausgehen und die Bildung von Primär- und Sekundärtumoren auf einem gemeinsamen Induktionsmechanismus beruhen.

6. Komplexstrukturen

Obwohl BRAUN auf Grund neuerer experimenteller Ergebnisse die Mutation als Ursache des Pflanzenkrebses ausgeschlossen hat, wurde diese Möglichkeit dennoch in Betracht gezogen (Seite 26). Zur Rechtfertigung dieses Standpunktes ist es notwendig, die Ergebnisse von BRAUN zu erläutern und die auf ihnen beruhenden Thesen einer Kritik zu unterziehen. — Da sich die Untersuchungen von BRAUN auf Komplexstrukturen beziehen, muß zunächst deren Problematik aufgerollt werden.

Bei den von *B. tumefaciens* hervorgerufenen Tumoren als sogenannte Komplexstrukturen handelt es sich um verschieden stark mißgebildete Blätter und Sprosse, die in Einzahl, zumeist aber in Mehrzahl auftreten. So finden sich alle Übergänge von fast normal aussehenden (Abb. 16) bis zu völlig deformierten Strukturen (Abb. 17, 19).

Abb. 16. Zwei Achselsprosse von *Kalanchoe Blossfeldiana* werden von je einem durch Beimpfung unterhalb der Anlage erzeugten Tumor getragen

Die Frage, ob derartige Teratomata von weniger entarteten Krebszellen aufgebaut werden oder die Folge einer Mischung tumoraler und normaler Zellen sind, wurde schon vor längerer Zeit von SMITH (83) und LEVINE diskutiert. Im Gegensatz zu LEVINE, der den Krebszellen eine morphologische Potenz zuschrieb, behauptete SMITH auf Grund von Versuchsergebnissen an *Bryophyllum* - Blättern, die Komplexstrukturen würden von gesunden Zellen gebildet.

Der Grad der Mißbildung beruht dann auf einem bestimmten Mischungsverhältnis von normalen und tumoralen Zellen und nicht auf einer variablen Tumorisierung der Einzelzelle.

Trotz sorgfältiger und umfangreicher Untersuchungen konnte BRAUN 1948 keine Entscheidung in dieser Frage herbeiführen. Eine später grundlegend geänderte Methodik führte indes zu interessanten 1951 veröffent-

lichten Ergebnissen. — Es gelang BRAUN, Fragmente von Komplexstrukturen in vitro weiterzuzüchten, wobei sich zeigte, daß trotz zahlreicher Übertragungen sie den ursprünglichen Grad der Entartung in der Regel nicht änderten. Sie neigten stets im gleichen Maße zur Organbildung wie der Komplextumor, von dem sie isoliert worden waren. Auch Tumoren, die durch verkürzte Induktionszeit (7, 8, 14) klein geblieben waren, erhöhten bei jahrelanger Kultur auf WHITEschem Nährmedium ihre niedrige Teilungsrate nicht. — Ausgehend von diesen Feststellungen und der Tatsache, daß die Wachstumsintensität eines Tumors mit der Induktionszeit ansteigt (10), entwickelte BRAUN (11) folgende Arbeitshypothesen:

1. Komplexstrukturen und langsam wachsende Tumoren sind Ausdruck einer nicht bis zur letzten Konsequenz eingetretenen Entartung der Einzelzelle.
2. Diese Entartung besteht in einem progressiven Erwerben sich selbst vermehrender zytoplasmatischer Entitäten (Einheiten).
3. Die jeweilige Anzahl dieser hypothetischen Entitäten je Zelle bedingt den Grad der Entartung, das ist die Teilungsrate und die morphogene Potenz.

Hält die Vermehrung der Entitäten nicht mehr Schritt mit der Teilungsrate ihrer Wirtszelle, müssen erstere einen Verdünnungseffekt erfahren und dadurch die Nachkommen der betreffenden Tumorzelle progressiv wieder normal werden.

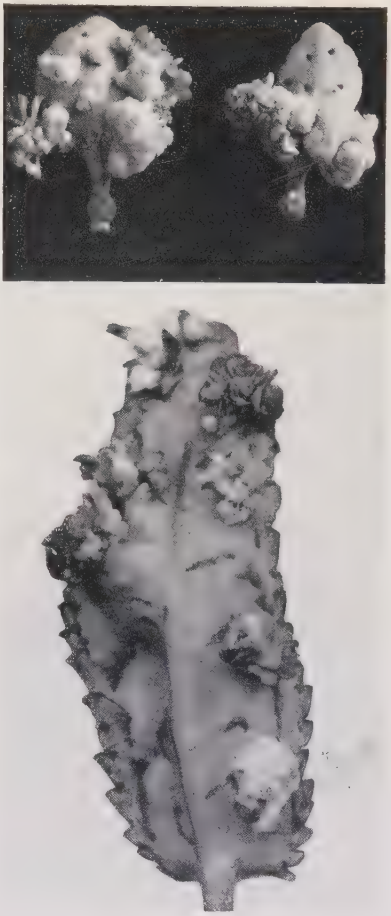


Abb. 17. „Komplexstrukturen" auf mehrfach beimpften *Kalanchoe*- (a) und *Bryophyllum*-Blättern (b)

Um eine Erhöhung der Teilungsrate bei den Tumorzellen zu erreichen, transplantierte BRAUN Fragmente von Komplexstrukturen des Tabaks auf gesunde Pflanzen der gleichen Art. Dadurch glaubt er den hypothetisch fundierten Verdünnungseffekt herbeiführen zu können; das tumorale Propfreis soll, gefördert durch die Unterlage, der Vermehrung seiner Entitäten vorauseilen. — BRAUN konnte einen Rückgang der Entartung feststellen, indem nach mehrfachen Transplantationen mit Fragmenten der jeweils neu heranwachsenden und normaler werdenden Pfropfreiser sich schließlich gesund erscheinende, blühfähige Sprosse bildeten.

In diesem Ergebnis sieht BRAUN eine Bestätigung seiner Arbeitshypothesen. Danach gibt es verschiedene Nuancen der Entartung, und die Kom-

plexstrukturen auf Tumoren werden von Krebszellen gebildet, deren Alteration keine vollständige ist. Diese Deutung der BRAUNschen Ergebnisse schließt sowohl eine im Kern als auch im Plasma lokalisierte Mutation als Ursache des bakteriellen Pflanzenkrebses aus. Diese zu so schwerwiegenden Konsequenzen führende Theorie von BRAUN soll nunmehr einer Kritik unterzogen werden; vor allem ist zu klären, ob die experimentellen Befunde von BRAUN mit der „Mischungstheorie" vereinbar sind. —

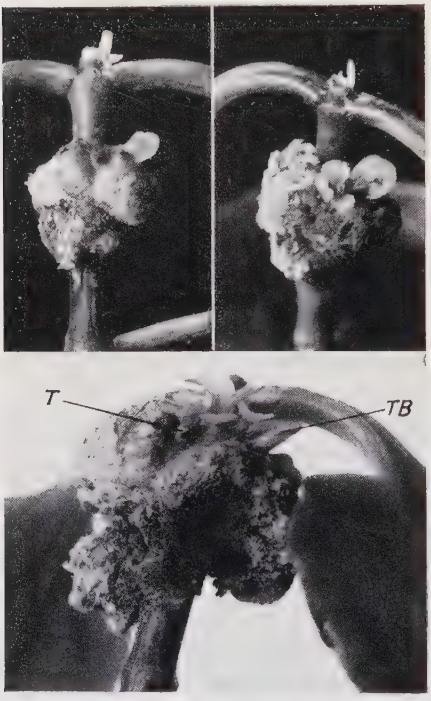


Abb. 18. Entwicklung einer Achselknospe auf einem Tumor von *Kalanchoe Blossfeldiana*. TB: erstes Blatt der Anlage, in deren Achsel sich drei Sprosse entwickelten. Der älteste davon mit einer kleinen Wucherung (T), die nach Beimpfung im Stadium der Abb. a auftrat

Besonders häufig bilden sich nach BRAUN (11) Komplexstrukturen auf solchen Tumoren, die sich auf den Schnittwunden dekapitierter Tabakpflanzen unter der Einwirkung des Bakteriums entwickeln. — Obwohl alle wundnahen Zellen bei geeigneter Impfmethodik mit Bakterien in Berührung kommen dürften, wird nicht jede dieser Zellen induziert. Nach BRAUN alterieren vor allem die Kambiumzellen, doch nicht jede wird zu einer Tumorzelle. DE ROPP (76) zufolge sind es nur Wundzellen eines gewissen physiologischen Stadiums und nach BRAUN (7) nur verletzte, aber weiterlebende Zellen, die induziert werden. — Demnach besteht ein Tumor, zumindest im Anfangsstadium, aus gesunden und entarteten Zellen. Wenn nun Komplexstrukturen ausschließlich aus Tumorzellen bestehen sollen, müßte zuvor eine Entmischung der anfänglich vorhandenen Normal- und Tumorzellen zugunsten der letzteren stattgefunden haben, die meines Wissens bisher nicht nachgewiesen ist. Im Gegenteil, eine Entmischung scheint fraglich, da sich nach BRAUN (11) gesunde, embryonale Zellen schneller teilen als Krebszellen, ein Umstand, mit dem der Autor die Normalisierung seiner Pfropfreiser erklärt.

Als weiterer Punkt unserer kritischen Betrachtung sei angeführt, daß es „Komplexstrukturen" gibt, die sich nachweislich aus gesunden Zellen aufbauen. In Abb. 16 werden zwei Achselsprosse von je einem Tumor getragen. Letztere wurden durch Beimpfungen unterhalb der Knospenanlagen zur Entwicklung gebracht. Das absterbende Tragblatt des linken Achselsprosses ist noch vorhanden, das rechte kurz vor der Aufnahme abgefallen. Beide Sprosse

gingen, was klar zu erkennen ist, aus axilären Anlagen hervor, deren Zellen in gesundem Zustand durch den wachsenden Tumor aus ihrer früheren Lage gehoben wurden. —

Im Gegensatz zu diesen noch normal erscheinenden Strukturen veranschaulicht Abb. 18 die Entwicklung einer Achselknospe, die eine gewisse Abnormität aufweist (drei Sprosse in der Achsel des ersten Blattes). Diese Anlage trat in Erscheinung, als der Tumor einen Durchmesser von etwa 1 cm hatte, während jene der Abb. 16 trotz ähnlicher Versuchsbedingungen schon beim ersten Anzeichen einer Tumorbildung sichtbar wurden.

Abb. 19 ist insofern von Bedeutung, als sie zwei Tumortypen zeigt, die sich scharf gegeneinander abgrenzen: rechts einen Tumor ohne Strukturen, mit rauher, verkorkter Oberfläche, links einen mit zahlreichen Komplexstrukturen, hohem Wassergehalt und von durchscheinend grünem Aussehen. — Nach den Vorstellungen von BRAUN müßten die Zellen des linken Tumors weniger Entitäten besitzen als die des rechten. Die Zahl der Entitäten je Zelle ist nach BRAUN abhängig von der Induktionszeit und wahrscheinlich auch von der Virulenz der Bakterien. Nun sind aber Virulenz und Induktionszeit für beide Tumortypen die gleichen. Wie läßt sich eine Differenz ihrer Entitätenzahlen erklären?

Abb. 19. Zwei Tumortypen, hervorgegangen aus einer Beimpfung: rechts ein Tumor mit rauher, verkorkter Oberfläche, links ein Tumor mit zahlreichen Komplexstrukturen, hohem Wassergehalt und von durchscheinend grünem Aussehen

Nach seinen Ausführungen zu schließen, würde BRAUN diese Frage wie folgt erklären:

Der Tumortyp wird bestimmt von der morphologischen Potenz der Ausgangszellen im Stadium der Induktion. Diese Potenz geht durch die Alteration nicht verloren, da sie sich entfaltet, sobald der Verdünnungseffekt eintritt. — Dem linken Tumor liegen solche Zellen zugrunde, die zur Zeit der Induktion die Fähigkeit zur Knospenbildung besaßen. Durch rasche Teilungen trat der Verdünnungseffekt ein, so daß sich diese Potenz teilweise entfalten konnte. — Die Zellen des rechten Tumors besitzen diese Potenz nicht, oder bei ihnen ist der Verdünnungseffekt wegen zu geringer Teilungsrate nicht eingetreten.

Demgegenüber bietet die „Mischungstheorie" eine einfachere Erklärung für den Unterschied der zwei Tumortypen:

Das Verhältnis von totipotenten, normalen Zellen zu Tumorzellen ist im linken Tumor größer als im rechten. Bei der Induktion des linken Tumors waren viele embryonale Zellen vorhanden (Achselknospe). Nur ein Teil von ihnen entartete. Die anderen konnten auf Grund ihrer hohen Teilungsrate und ihrer Entfernung aus dem Hemmbereich der Pflanze mit dem Tumorwachstum Schritt halten und versuchten, von korrelationsunterbrechenden Krebszellen durchsetzt, ihre Potenz zu entfalten. Die einzelnen Ansammlungen aus überwiegend gesunden Zellen sind deshalb untereinander nicht zugeordnet, so daß jede „eigenmächtig" ein Sproßprimordium aufbaute. Die graduellen Unterschiede der Entartung dieser Primordien gehen auf das jeweilige Mischungsverhältnis solcher Ansammlungen zurück.

Der rechte Tumor hat sich an einer Wundstelle gebildet, die neben viel parenchymatischen nur wenig totipotente Zellen aufwies. Treten später lokale Anhäufungen aus nicht alterierten totipotenten Zellen auf, können sich auch auf diesem Tumor Komplexstrukturen bilden.

Wie erwähnt, erscheint eine Entmischung in vivo zugunsten der Tumorzellen wenig wahrscheinlich. In vitro aber, auf wuchsstofffreiem Milieu, ist eine solche zunächst zu erwarten. Es ist ja bekannt, daß Tumorgewebe gegenüber Heteroauxin unempfindlich ist, während normales Gewebe ohne diesen Wuchsstoff kein nennenswertes Wachstum aufweist (26, 31, 33, 34, 74, 75, 79). Dieser Unterschied im Wuchsstoffbedarf macht im Falle einer Mischung eine Entmischung zugunsten der Tumorzellen wahrscheinlich. Die Beobachtung, daß die graduellen Unterschiede der Entartung trotz längerer Kultur in vitro keine Änderung erfahren, wird somit zu einer wesentlichen Stütze für die Theorie von BRAUN. Es tritt trotz entmischungsfördernder Umstände keine Entmischung ein, so daß es fraglich erscheint, ob überhaupt eine Mischung vorliegt. — Allerdings ist nicht sicher, ob eine Entmischung stets unterbleibt, wie BRAUN angibt. GAUTHERET (30) und DE ROPP (78) haben eine gewisse Entmischung beobachtet. Selbst BRAUN beschreibt einen Effekt, der meines Erachtens als Entmischung gedeutet werden kann: „... instances have been observed in one of the clones in which fast-growing cells developed from the slow-growing stock."

In der Regel konnte BRAUN in vitro keine Entmischung feststellen. Es erhebt sich daher die Frage, ob sich Komplexstrukturen, wenn sie auf eine Mischung zurückgehen, in vitro stets entmischen müssen bzw. ob die Theorie von BRAUN durch das Ausbleiben einer solchen Entmischung bewiesen wird.

Die Unempfindlichkeit des Tumorgewebes gegenüber Heteroauxinen wird erklärt mit der Bildung von Wuchsstoffen in optimaler Konzentration durch die Zellen (50). Im Falle einer Mischung aber stehen diese Stoffe den Tumorzellen und den normalen Zellen zur Verfügung. DE ROPP konnte nämlich zeigen (75), daß wuchsstoffproduzierende Krebszellen, unabhängig vom Wuchsstoffgehalt des Nährmediums, eine intensive Vermehrung der in ihrer Nachbarschaft kultivierten wuchsstoffheterotrophen Normalzellen ermöglichen. Dieser Umstand kann für das Ausbleiben einer Entmischung verantwortlich sein, womit ein wichtiges Argument BRAUNS an Wert verliert.

Eine Entmischung könnte auf einer naturbedingten, im einzelnen zufälligen Inhomogenität der Mischung beruhen. Erfolgen könnte sie zugunsten der Tumorzellen, wie es DE ROPP (78) und GAUTHERET (30) beobachteten, oder zugunsten der Normalzellen, wie es möglicherweise BRAUN (11) durch Pfropfung und Auslese gelang.

Ein weiterer Einwand gegen die Entitätentheorie ergibt sich aus folgender Überlegung:

Nach Braun besitzen die Entitäten einen eigenen Teilungsrhythmus, unabhängig von der Teilungsgeschwindigkeit ihrer Wirtszellen, in einem „normalen" Tumor aber mit ihr übereinstimmend: Durch eine erhöhte Teilungsrate der Tumorzellen soll die Entitätenzahl ihrer Tochterzellen abnehmen und dadurch die Wiedergesundung eingeleitet werden. — Die Entitätenzahl der Tochterzellen muß sich aber erhöhen, wenn die Teilungsrate der Mutterzellen gegenüber der ihrer Entitäten zurückbleibt. Dies wäre bei Tumoren zu erwarten, die auf Grund verkürzter Induktionszeit ein sehr langsames Wachstum aufweisen. Solche Tumoren müßten zunehmend entarten, was aber nicht der Fall ist; denn Braun konnte eine Steigerung der Wachstumsintensität, die nach seiner Auffassung mit der fortschreitenden Entartung einhergehen müßte, in vitro nicht beobachten. — Die Entitätentheorie von Braun bedarf also einer weiteren Voraussetzung: Die Teilungsrate der Entitäten läuft der ihrer Wirtszelle parallel, ausgenommen sind sehr hohe Teilungsraten bei letzterer.

Wie in der Einleitung erwähnt (Seite 2), bilden sich bei Temperaturen oberhalb 30 ° C keine Tumoren. — Ausgehend von dieser Beobachtung haben Braun und Mandle (14) beimpfte Pflanzen mehrmals, und zwar für verschieden lange Zeitspannen abwechselnd bei 26 ° und 32 ° C gehalten. Hierbei zeigte sich, daß während der (etwa 100stündigen) Dispositionszeit die bei 26 ° auftretenden Teilinduktionen bei 32 ° reversibel sind und daß das Größenverhältnis der miteinander alternierenden Kalt- und Warmperioden (Stundenzahl des 26 °-Intervalls : Stundenzahl des 32 °-Intervalls) ausschlaggebend ist für die Tumorbildung. Erreicht es den Wert 1, so bilden sich keine Tumoren. Diese Relation trifft allerdings nur für Intervalle zu, die die 15-Stunden-Grenze nicht überschreiten. Es bilden sich nämlich nach 15- (± 3) stündiger kontinuierlicher 26 °-Einwirkung kleine Tumoren im Gegensatz zu intermittierenden Behandlungen mit gleich großen, die 15- (± 3) Stundengrenze nicht überschreitenden Kalt- und Warmintervallen. In diesem Falle werden die während der 26 °-Intervalle erzielten Teilinduktionen durch die dazwischenliegenden 32 °-Intervalle eliminiert; nicht aber nach kontinuierlicher 15stündiger 26 °-Einwirkung, obwohl dieser eine etwa 85stündige 32 °-Einwirkung folgt.

Diese Ergebnisse führen meines Erachtens zu dem Begriff des „kritischen Wertes": Nach 15 Stunden 26 °-Einwirkung erreichen die Teilinduktionen, ungestört von dazwischenliegenden 32 °-Intervallen, eine Summe, die einen gewissen kritischen Wert überschreitet, so daß die eigentliche Induktion und somit die irreversible Alteration der Zelle eingetreten ist.

Das Auftreten eines „kritischen Wertes" ist nach den Erfahrungen von Druckrey und Hampel (23) ein Anzeichen für eine Alles-oder-Nichts-Reaktion. Die krebsige Entartung der Pflanzenzelle ist demnach sehr wahrscheinlich eine solche Reaktion. Andererseits aber ist die Tu-

morgröße innerhalb gewisser Grenzen proportional der kontinuierlichen 26 ^{0}-Periode (13). — Bei einer Alles-oder-Nichts-Reaktion gibt es aber keine Proportionalität zwischen Reizgröße und Wirkung.

Dieser Widerspruch kann meines Erachtens nur beseitigt werden, wenn man die verschiedenen Tumorgrößen sowie den Grad der Entartung bei Komplexstrukturen auf ein entsprechendes Mischungsverhältnis zwischen völlig gesunden Zellen einerseits und völlig entarteten Zellen andererseits zurückführt. —

Das Ziel dieser Erörterung bestand nicht darin, die Theorie von BRAUN zu widerlegen; es sollte nur ihr hypothetischer Charakter herausgestellt werden, da die Behauptung BRAUNS gelegentlich als Tatsache hingestellt wird. Auch sollte nicht die Existenz der Entitäten in Frage gestellt werden, sondern lediglich die sukzessive Entartung und Wiedergesundung („Recovery of Crown-gall", 11) der Tochterzellen von Krebszellen.

Ein gesicherter Nachweis solcher sich selbst vermehrender zytoplasmatischer Entitäten beim Pflanzenkrebs wäre ein wertvoller Beitrag zum Thema „Tier- und Pflanzenkrebs". Denn nach den Ergebnissen von DRUCKREY und HAMPEL (23) sind für die Tumorbildung durch Buttergelb sich selbst vermehrende Entitäten verantwortlich, vergleichbar mit denen, die BRAUN für den Pflanzenkrebs fordert. Allerdings läuft bei der Tumorbildung durch Buttergelb dem progressiven Erwerben der Entitäten keine graduelle Entartung parallel. Der tierische Krebs manifestiert sich erst — wie oben auch für den Pflanzenkrebs gefolgert —, wenn der „kritische Wert" überschritten wird.

IV. Zusammenfassung

1. Auf Grund folgender Versuchsergebnisse wird die zur Zellneubildung führende mechanische Verwundung als eine spezifische Voraussetzung für die Auslösung des Pflanzenkrebses angesprochen:
   a) Die Gegenwart zahlreicher Bakterien in den Interzellularen der Blätter von *Kalanchoe Blossfeldiana* und *Bryophyllum daigremontianum* führt, obwohl die Erreger dort zwölf Wochen lang nachweisbar sind, ohne Verwundung nicht zur Tumorbildung (Seite 6).
   b) Die Tumorbildung unterbleibt auch, wenn in den Interzellularen die Lebensbedingungen für die Bakterien durch Infiltrationen von Nährlösungen und pflanzeneigenen Preßsäften optimal werden (Seite 11).
   c) Die ohne künstliche Verwundung in den Blattkerben junger *Bryophyllum*-Blätter auftretenden Tumoren entspringen solchen Gewebebezirken, die durch gewöhnliche Wachstumsvorgänge bei der Ausdifferenzierung der Brutknospen eine Verwundung erleiden (Seite 9/10; Abb. 4, 5, 6).
2. Die mechanische Verwundung kann durch Schädigungen anderer Art ersetzt werden:

a) Zur Tumorbildung führen Verbrennungen mittels Brennglas oder glühender Nadel an *Bryophyllum*-Blättern, die zuvor mit einer Bakteriensuspension infiltriert wurden (Seite 13).

b) Zur Tumorbildung führen Schädigungen durch Trockeneis an infiltrierten Blättern (Seite 14).

c) Ausgangspunkte für Tumorbildung sind auch Ätzwunden, die an infiltrierten *Bryophyllum*-Blättern durch 1n KOH erzielt werden (Seite 15; Abb. 10).

3. Durch 1n H_2SO_4 erzeugte Ätzwunden bleiben weitgehend reaktionslos im Gegensatz zu 2 a, b, c (Seite 14).

4. Für die Tumorbildung scheint weder das Bloßlegen der Protoplasten (76) noch das intrazelluläre Vorkommen der Bakterien (1, 82) erforderlich (Seite 24).

5. Durch IES- (= Heteroauxin-) Gaben wird die altersbedingte Begrenzung der zur Tumorbildung neigenden Bereiche nicht erweitert (Seite 16/17, Abb. 11).

6. Durch künstliche Wuchsstoffe erzielbare Wucherungen bilden sich noch bei 31 ° C. Bei dieser Temperatur gelangen keine bakteriellen Tumoren zur Entwicklung (70, 7), und es läuft die Wuchsstoffproduktion der Bakterien weiter (Seite 20).

7. Bei Verwendung eines glyzingeschwächten Stammes (52) konnte die Zweiphasentheorie (12) nicht bestätigt werden (Seite 21).

8. Es wird der Nachweis versucht, daß als Folge der Verwundung das Meristematischwerden der Zellen und ihre Korrelationsfreiheit wichtige Faktoren einer spezifischen Tumordisposition sind (Seite 25).

9. Das möglicherweise auf „Costoff"-Schwund beruhende physiologische Altern der Zellen (Seite 27) führt zur „Immunität" gegenüber *B. tumefaciens* (Seite 17/18, Tabelle 2; Abb. 11), zur Unempfindlichkeit gegenüber Heteroauxin (Seite 16) und zu verzögerter Wundheilung (Seite 27; Abb. 12 bis 15).

10. Die „Entitätentheorie" von Braun (11) wird einer eingehenden Kritik unterzogen (Seite 32—38).

Literaturverzeichnis

1. Appler, H., 1951: Über die Tumorbildung durch *Pseud. tumefaciens* und durch Heteroauxin an *Helianthus*. Biol. Zentralbl. 70, 452—469.

2. Berthelot, A. und Amoureux, G., 1938 a: Sur la formation d'acide indole-3-acétique par l'action de *B. tumefaciens* sur le tryptophan. Compt. Rend. 206, 537—540.

3. — —, — —, 1938 b: Sur la formation de l'acide indole-3-acétique par l'action du rayonnement ultraviolet sur le tryptophan. Compt. Rend. 206, 699—701.

4. BLACK, 1946: Plant tumors induced by the combined action of wounds and virus. Nature **158**, 56—57.

5. BRAUN, A. C., 1941: Development of secundary tumors and tumor-strands in the crown-gall of sunflowers. Phytopath. **31**, 135—149.

6. — —, 1943: Studies on tumor inception in the crown-gall disease. Am. Jour. Bot. **30**, 674—677.

7. — —, 1947 a: Therminal studies on the factors responsible for tumor initiation in crown-gall. Am. Jour. Bot. **34**, 234—240.

8. — —, 1947 b: Recent advances in the physiology of tumor formation in the crown-gall disease of plants. Growth Symposium **XI**, 325—337.

9. — —, 1948: Studies on the origin and development of teratonas, incited by the crown-gall Bakterium. Growth, **XII**, 255—269.

10. — —, 1951 a: Cellular autonomy in crown-gall. Phytopath. **41**, 963—966.

11. — —, 1951 b: Recovery of crown-gall tumor cells. Cancer Research **11**, 839—844.

12. — — and LASKARIS, 1942: Tumor formation by attenuated crown-gall bacteria in the presence of growth-promoting substances. Proc. Nation. Acad. Sci. (US) **28**, 468—477.

13. — — and WHITE, P. R., 1943: Bacteriological sterility of tissues derived from secundary crown-gall tumors. Phytopath. **33**, 85—100.

14. — — and MANDLE, R. J., 1948: Studies on the inactivation of the tumor inducing principle in crown-gall tumors. Growth **12**, 255—269.

15. BROWN, N. and GARDNER, F. E., 1936: Galls produced by plant hormones, including a hormone extracted from *B. tumefaciens*. Phytopath. **26**, 708—713.

16. BÜNNING, E., 1948: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie. Springer-Verlag.

17. CAMUS, G. et GAUTHERET, R. J., 1948 a: Sur les transmissions par greffage des propriétés tumorales des tissus de crown-gall. Compt. Rend. Soc. Biol. (Paris) **142**, 15—16.

18. — —, — —, 1948 b: Sur le caractère tumoral des tissus de scorsonère ayant subi la phénomène d'accoutumance aux hétéroauxines. C. R. l'Acad. Sci. **226**, 744—745.

19. — —, — —, 1948 c: Nouvelles recherches sur le greffage des tissus normaux et tumeraux sur des fragments de racines de scorsonère cultivés in vitro. Compt. Rend. Soc. B. **142**, 769—771.

20. — —, — —, 1948 d: Sur le repiquage des proliferations induites sur des fragments de racines de scorsonère par des tissus de crown-gall et des tissus ayant subi la phénomène d'accoutumance aux hétéroauxines. Compt. Rend. Soc. **142**, 771—773.

21. DAME, F., 1938: *Pseud. tumefaciens*, der Erreger des Wurzelkropfes, in seiner Beziehung zur Wirtspflanze. Ztrbl. f. Bakteriol. II **98**, 385—429.

22. v. DENFFER, D., 1942: Die hormonale Beeinflussung pflanzlicher Gestaltungsprozesse. Ber. d. Oberhess. Ges. f. Natur- und Heilkunde; Neue Folge Bd. 25.

23. DRUCKREY, H. und HAMPEL, H., 1950: Lebensmittelfarben und Krebs. Klin. Wochenschr. **28**, 289—293.

24. FABRE, E. et DUMAL, F., 1853: Bull. Soc. centr. d'Agr. Dept. de l'hérault. (Zit. n. STAPP: Ber. Deutsch. Bot. Ges. **45**, 480.)

25. FRIEDMANN, B. A. and FRANCIS, TH., 1942: Gall formation by *Phyt. tumefaciens* extract and indole-3-acetic acid in cultures of tomato roots. Phytopath. **32**, 762—772.

26. Gautheret, R., 1942: Hétéroauxines et cultures des tissus végétaux. Bull. Soc. Chimie Biol. **24**, 13—47.

27. — —, 1945: Une voie nouvelle en Biologie végétale: La culture des tissus. Gallimard, Paris, 1945.

28. — —, 1946: Comparaison entre l'action de l'acide indole acétique et celle du *Phyt. tumefaciens* sur la croissance des tissus végétaux. Compt. Rend. **140**, 169—171.

29. — —, 1947 a: Action du pH sur le développement des cultures de tissus de carotte. Compt. Rend. **141**, 25—29.

30. — —, 1947 b: Comparaison entre la structure des cultures des tissus normaux et des cultures des tissus de crown-gall de Topinambour. Compt. Rend. **141**, 598—601.

31. — —, 1947 c: Sur les besoins en hétéroauxine des cultures de tissus. Compt. Rend. Soc. Biol. **141**, 627—628.

32. — —, 1947 d: Structures des néoformations provoquées par l'action des acides 2,4-dichlorphenoxyacétique et naphtoxyacétique sur les tissus de Topinambour cultivés in vitro. Compt. Rend. Soc. **141**, 473.

33. — —, 1948 a: Sur la culture de trois types de tissus de Scorsonère: tissus normaux, tissus de crown-gall et tissus accoutumés à l'hétéroauxine. Compt. Rend. Acad. Sci. **226**, 270—272.

34. — —, 1948 b: Action de l'acide indole-acétique sur le développement de trois types de tissus de Scorsonère. Compt. Rend. Soc. Biol. **142**, 774.

35. v. Guttenberg, 1950: D. Naturwiss. **37**, 65.

36. Haberlandt, G., 1921 a: Wundhormone als Erreger von Zellteilungen. Haberlandts Beitr. z. allgem. Bot. **2**, 1.

37. — —, 1921 b: Über Auslösungen von Zellteilungen durch Wundhormone. Sitzber. d. Preuß. Ak. d. Wiss. VIII, 221.

38. Hamner, K. C. und Kraus, 1937: Histological reactions of bean plants to growth promoting substances. Bot. Gaz. **98**, 735—807.

39. Hildebrand, E. M., 1942: A micrurgical study of crown-gall infection in tomato. Jour. Agr. Res. **65**, 45—59.

40. Hildebrandt, A. C., Riker, A. J. and Duggar, B., 1945: Growth in vitro of excised Tobacco and Sunflower tissue with different temperatures, Hydrogenion-Concentrations and amounts of sugar. Am. Jour. Bot. **32**, 352—362.

41. — —, — —, — —, 1946: Influence of crown-gall bacterial products, crown-gall tissue extracts and yeast extract on growth in vitro of excised Tobacco and Sunflower tissue. Cancer Res. Vol. 6, No. 7.

42. Jost, L., 1935: Wuchsstoff und Zellteilung. Ber. D. Bot. Ges. S. 733.

43. Kandler, O., 1950: Versuche zur Kultur isolierten Pflanzengewebes in vitro. Planta, **38**, 565—585.

44. — —, 1952: Über eine physiologische Umstimmung von Sonnenblumenstengelgewebe durch Dauereinwirkung von IES. Planta, **40**, 346—349.

45. Kelly, S. and Black, L., 1949: The origin, development and cell structure of a virus tumor in plants. Am. Jour. Bot. **36**, 65—73.

46. Kraus, E., Brown, A. and Hamner, K., 1936: Histological reactions of bean plants to indole acetique acid. Bot. Gaz. **98**, 370—420.

47. KULESCHA, Z., 1947 a: Production de tumeurs par l'inoculation de *Phyt. tumefaciens* dans des fragments de parenchyme vasculaire de Topinambour et de fibre de carotte cultivés in vitro. Compt. Rend. Soc. Biol. **141**, 24—25.

48. — —, 1947 b: Comparaison entre l'action de *Phyt. tumefaciens* et cette de l'acide indole acétique sur des fragments de parenchyme vasculaire de Topinambour cultivés in vitro. Compt. Rend. Soc. Biol. **141**, 232.

49. — —, 1949 a: Relation entre le pouvoir de proliferation spontanée des tissus de Topinambour et leur teneur en substance de croissance. Compt. Rend. S. B. **143**, 354.

50. — —, 1949 b: Recherches sur l'élaboration des substances de croissance par les cultures de tissus de vigne. Compt. Rend. Soc. Biol. **143**, 1499.

51. — — et GAUTHERET, R., 1947: Sur les variations du pouvoir de proliferation des tissus de Topinambour. Compt. Rend. Soc. Biol. **141**, 61—63.

52. VAN LANEN, BALDWIN and RIKER, 1940: Attenuation of cell stimulating Bacteria by specific amino acids. Science **92**, 512.

53. LEVINE, M., 1947: Differentiation of carrot root tissue in vitro. Bull. Torrey Bot. Clubs **74**, 321—328.

54. — —, 1951: The effect of growth substances and chemical carcinogens on fibrous roots of carrot tissue grown in vitro. Am. Jour. Bot. **38**, 132—137.

55. LINK, G. and WILCOX, G., 1937: Tumorproduction by hormones from *Phyt. tumefaciens*. Science **86**, 126—127.

56. — —, — — and LINK, A., 1937: Responses of bean and tomato to *Phyt. tumefaciens*-extract, β-indolacetique acid and wounding. Bot. Gaz. **98**, 816—867.

57. — — and EGGERS, V., 1941: Hyperauxin in crown-gall of Tomato. Bot. Gaz. **103**, 87—106.

58. LOCKE, S., RIKER, A. and DUGGAR, B., 1938: Growth substance and development of crown-gall. Jour. Agr. Res. **57**, 21—39.

59. — —, — —, — —, 1939 a: The nature of growth substance originating in crown-gall tissue. Jour. Agr. Res. **57**, 21—39.

60. — —, — —, — —, 1939 b: Production of growth substance on pepton broth by crown-gall bacteria and related nongall-forming organismes. Jour. Agr. Res. **59**, 519—525.

61. MAGNUS, W., 1915: Durch Bakterien hervorgerufene Neubildungen an Pflanzen. Sitz.-Ber. d. Ges. Nat.-Freunde Berlin, **7**, 263—267.

62. — —, 1918: Wundkallus und Bakterientumoren. Ber. Bot. Ges. **36**, 20.

63. MARQUARDT, H., 1949: Mutationsauslösung durch Abbauprodukte körpereigener Stoffe. Ärztl. Forsch. **3**, Heft 107.

64. MARSHAK, A. and BYRON, R., 1945: The use of regenerating Liver as a Method of Assey. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., **59**, 200—202.

65. MOREL, G., 1945: Remarques sur l'action de l'acide naphthyle acétique sur le développement des tissus de Vigne-vierge. Compt. Rend. Soc. **7**, 269—271.

66. — —, 1947: Transformation des cultures de tissus de vigne produites par l'hétéroauxine. Compt. Rend. S. B. **141**, 280.

67. PINCKARD, J., 1935: Physiological studies of several pathogenic bacteria that induce cell stimulation in plants. Jour. Agr. Res. **50**, 933—952.

68. REICHE, H., 1924: Über Auslösung von Zellteilungen durch Injektion von Gewebesäften und Zelltrümmern. Zeitschr. f. Bot. 1924, S. 241—278.

69. Riker, A. J., 1923: Jour. Agr. Res. **25**, 119, und **26**, 425.

70. — —, 1926: Studies on the influence of some environmental factors on the development of crown-gall. Jour. Agr. Res. **32**, 83—96.

71. Riker, A. and Nagy, R., 1938: Cell stimulation by chemicals in relation to crown-gall. Phytopath. **28**, 18—19.

72. — —, Lyneis, M. and Locke, 1941: Comparative physiology of crown-gall, radiobacter and hairy root bacteria. Phytoph. **31**, 964—977.

73. Robinson and Walkden, 1923: A critical study of crown-gall. Ann. Bot. **37**, 299—324.

74. de Ropp, R., 1947 a: The response of normal plant tissues and crown-gall tumor tissues to synthetic growth hormones. Am. Jour. Bot. **34**, 53—62.

75. — —, 1947 b: The growth-promoting and tumefacient factors of bacteria-free crown-gall tumor tissues. Am. Jour. Bot. **34**, 248—261.

76. — —, 1948 a: Tumor formation on stem fragments in vitro. Cancer Res. **8**, 519—530.

77. — —, 1948 b: The movement of crown-gall bacteria in isolated stem fragments of Sunflower. Phytop. **38**, 993—998.

78. — —, 1948 c: The interaction of normal and crown-gall tissue in vitro grafts. Am. Jour. Bot. **35**, 372—377.

79. — —, 1950: The comparative growth promoting action of indole-3-acetic acid and *Agrobacterium tumefaciens*. Am. Jour. Bot. **37**, No. 5.

80. Siegler, E., 1938: Relation between crown-gall and pH of the soil. Phytopath. **28**, 858—859.

81. Smith, C. O., 1938: Crown-gall on taxus baccata. Phytopath. **28**, 153.

82. Smith, E. F., 1912: Pflanzenkrebs versus Menschenkrebs. Ztrbl. f. Bakteriol. II, **34**, 394—406.

83. — —, 1921: Effect of crown-gall inoculation on *Bryophyllum*. Jour. Agr. Res. **21**, 593—598.

84. — —, 1922: Appositional growth in crown-gall tumors and in cancers. Jour. Cancer Res. **7**, 1—49.

85. — — und Townsend, 1907: Ein Pflanzentumor bakteriellen Ursprungs. Ztrbl. f. Bakteriol. II, **20**, 89—91.

86. Söding, H., 1952: Die Wuchsstofflehre. Ergebnisse und Probleme der Wuchsstoffforschung. Georg Thieme Verl. Stuttgart.

87. Solacolu, Th., Constantinesco, D. et Constantinesco, M., ——: Etude anatomique et cytologique des modifications provoquées par les substances organoformatives, sur les tiges decapitées de *Vicia faba*. Compt. Rend. de l'Acad. de Science **206**, 1675—1677.

88. Stapp, C., 1927: Der bakterielle Pflanzenkrebs und seine Beziehung zum tierisch-menschlichen Krebs. Ber. D. Bot. Ges. **45**, 480—504.

89. — —, 1938: Der Pflanzenkrebs und sein Erreger *Pseudomonas tumefaciens*. IV. Mitteilung. Ztrbl. f. Bakteriol. **99**, 116—123.

90. — —, 1939: Bakterielle Pflanzenkrankheiten. Ztrbl. f. Bakteriol. I **101**, 261—286.

91. — —, 1951: Der Pflanzenkrebs und sein Erreger *Pseudomonas tumefaciens*. XV. Mitteilung: Weitere Untersuchungen über Virulenzbeeinflussungen und Bekämpfungsmöglichkeiten. Phytopath. Zeitschr. **17**, 333—347.

92. — —, Müller, G. und Dame, 1938: Der Pflanzenkrebs und sein Erreger *Pseudomonas tumefaciens*; VII. Mittlg.: Untersuchungen über die Möglichkeit einer wirksamen Bekämpfung an Kernobstgehölzen. Ztrbl. f. Bakteriol. I, **144**, 94—108.

93. Stuckey, I. and Curtis, O., 1938: Ice formation and the death of plant cells by freezing. Plant. Physiol. **13**, 815—833.

94. Struckmeyer, E., Hildebrandt, A. and Riker, A., 1949: Histological effects of growth-regulating substances on sunflower tissue of crown-gall origin, grown in vitro. Am. Jour. Bot. **36**, 491—495.

95. Suit, R. and Eardly, 1935: Secondary tumor formation on herbaceous hosts induced by *Pseud. tumef.* Scientif Agr. **XV**, 345—357.

96. Thimann, K., Skoog, F. and Byer, A., 1942: The Extraction of auxin from plant tissues. II. Am. Jour. Bot. **29**, 598—606.

97. Went, F. W., 1938: Specific factors other then auxin affecting growth and root formation. Plant. Physiol. **13**, 55—80.

98. White, P. R., 1942: Metastatic (graft) tumors of bacteria-free crown-galls on *Vinca rosea*. Am. Jour. Bot. **32**, 237—241.

99. White, P. and Braun, A., 1942: A cancerous neoplasm of plants. Autonomous bacteria-free crown-gall tissue. Canc. Res. **2**, 597—617.

100. Wildmann, S., Ferri, M. and Bonner, J., 1946: The enzymatic conversion of tryptophan to auxin by spinach leaves. Am. Jour. Bot. **33**, 839 (Abstr.).

101. van Wisselingh, C., 1924: Die Zellmembran. Handbuch der Pflanzenanatomie. I. Abteilung, herausgegeben von K. Linsbauer.

Aus dem Botanischen Institut der Universität Köln

Die unterschiedliche Empfindlichkeit von Samen gegenüber Heißwasserbädern

(Untersuchungen an Weizen)

Von

H. F. Linskens

Mit 5 Abbildungen

Einleitung

Unter den Bekämpfungsverfahren pflanzlicher Mykosen nimmt das Heißwasserbad bei Flugbrandinfektion eine Sonderstellung ein. Seine Anwendung führt an ruhenden Embryonen von Weizen- und Gerstenkaryopsen durch kurzzeitige Einleitung des Quellungsprozesses unter gleichzeitiger Einwirkung höherer Temperaturen zu einer radikalen Unterbrechung der Keimruhe. Aus praktischen Erwägungen heraus muß sich an diese Vorgänge ein schneller Abbruch des angeregten Aktivitätszustandes durch Einleitung eines Trocknungsprozesses anschließen. Mit diesem physikalischen Beizverfahren ist also eine kurzfristige Reduktion der Reaktionswiderstände, welche die Samenruhe bedingen, verbunden. Dabei ist die Wahl des Zeitpunktes im Laufe der Ruhe bislang willkürlich.

Nachdem gezeigt werden konnte, daß die Samen, die einem solchen zweiteiligen Beizverfahren unterworfen worden sind, nicht in ihre physiologische „Ausgangslage" zurückkehren (Linskens 1950), erschien es wesentlich, zu wissen, ob und wie sich die Sensibilität der Samen von Kulturpflanzen gegenüber den genannten Prozessen im Laufe der Ruhe ändert. Aus älteren Angaben von Porodko (1926) war zu ersehen, daß mit einer unterschiedlichen Reaktion des ruhenden Embryos auf einen Hitzereiz zu rechnen war. Neuerdings hatte auch schon Schmidt (1947) von jahreszeitlich wechselnden Beizschäden bei Bohnen kurz berichtet. Die nachstehend dargestellten Untersuchungen versuchen daher unsere Kenntnisse von den keimungsphysiologischen Vorgängen als Folge von Heißwasserbädern zu erweitern.

Methodisches

Weizen der Sorte Carstens Dickkopf V von der Saatzuchtwirtschaft Krafft in Buir*) diente als Versuchsmaterial. Die erste Probe wurde am 28. Juli 1950 vom Halm genommen. Den Testen am 28. Juli und 4. August liegen Proben zugrunde, die jeweils an den betreffenden Tagen am Ort der Ähren entnommen worden sind. Ab 30. Juli stand das Getreide nach dem Schnitt auf dem Felde. Vom 6. August ab lagerten die Garben in offener Feldscheune. Am 2. September wurden vor dem Drusch so viele Ähren entnommen, wie zur Durchführung der geplanten Versuche notwendig erschien. In allen Fällen wurden die Ähren von Hand entkörnt.

Wassergehaltsbestimmungen und Keimtest erfolgten nach den Normvorschriften von EGGEBRECHT (1941). Die Keimproben wurden bei 18 ° C im Dunkeln in Petrischalen (⌀ 9 cm) auf Fließpapier (Schleicher & Schüll 595) mit 5 ccm H_2O durchgeführt. Jedem Test liegen 4 × 100 Karyopsen zugrunde. Die Triebkraftprüfung an 4 × 100 Karyopsen erfolgte unter einer 2 cm hohen Schicht von reinem Quarzsand, ebenfalls bei 18 ° C. Schalen, Töpfe und Sand wurden vor jeder Bestimmung durch Hitze sterilisiert. Dem Heißwasserbad wurden jeweils 50 g Saatgut in 500 ccm H_2O dest. bei 47 ± 0,5 ° C zwei Stunden lang unterworfen. Die anschließende Trocknung erfolgte in einem Phywe-Trockenschrank 24 Stunden lang bei 35 ± 1 ° C in 1 cm hoher Schichtung auf schräger Unterlage. Dabei schwankte die relative Luftfeuchtigkeit zwischen 30 und 40 %. — Das Versuchsmaterial wurde unterschiedlich gelagert, um die etwaigen Verschiedenheiten in der Reaktion zu erfassen. Die Lagerungsbedingungen wurden so gewählt, daß neben solchen, wie sie BÜNNING (1949, 1951) verwandte, um die Ursachen endogener Keimfähigkeitsschwankungen zu erfassen (in unserem Programm C bis F), auch andere, die den natürlichen Verhältnissen mit wechselnden Faktoren entsprachen, berücksichtigt wurden (A und B). Die Lagerungsversuche begannen am 3. September unter folgenden Bedingungen:

A. In der Wetterhütte der Klimastation Köln. Diese befindet sich im Botanischen Garten 200 cm über dem Erdboden.

B. Im Labor. Die Temperatur schwankte im Sommer zwischen 17 und 26 ° C, im Winter fiel sie nicht unter 12 ° C. Die relative Luftfeuchtigkeit betrug 65 ± 5 %.

C. Im Exsikkator. Der mit Chlorkalzium stets frisch gefüllte Exsikkator (0 % rel. Feuchte) befand sich in einem Kellerraum von 18 ± 0,5 ° C.

D. Im Eisschrank. Er schwankte zwischen + 3 und — 2 ° C, die Luftfeuchtigkeit betrug fast konstant 100 %.

E. Im Feuchtraum. Unter den gleichen Temperaturbedingungen wie C, jedoch bei 98 ± 2 % relativer Feuchte.

F. Im Thermostaten. Dieser Phywe-Trockenschrank war auf 35 ± 1 ° C eingestellt und hatte im Innern eine relative Feuchtigkeit von 40—70 %. Jede Probe wurde in einer Menge von 1,5 kg in einer Pappdose mit durchlöchertem Deckel aufbewahrt und häufig vorsichtig durchmischt.

Ergebnisse

Ein Heißwasserbad von 47 ± 0,5 ° C und einer Dauer von zwei Stunden wurde gewählt, weil aus früheren Untersuchungen (FLENSBERG 1949, LINSKENS 1950) bekannt war, daß bei dieser Kombination von Temperatur und Einwirkungsdauer ein im Keimtest erfaßbarer Effekt zu erzielen ist, ohne eine vollständige Abtötung zu erzielen. Der angewandte Trocknungsprozeß (24 Stunden 35 ° C) erreicht, wie an anderer Stelle gezeigt (LINSKENS 1952), einen Wassergehalt von großer Konstanz. Diese Methode ist außerdem so schonend, daß unerwünschte Nebeneffekte nicht zu erwarten sind. Am Ende des Trocknungsvorganges betrug der Wassergehalt durchweg 9,5 ± 0,5 %.

*) Ich danke Herrn Josef Krafft für die Überlassung des Saatgutes, Herrn Saatzuchtleiter Dr. E. Schmidt für die freundliche Hilfe.

a) Der Wassergehalt im Verlauf der Samenruhe

Überraschend sind zunächst die Wassergehaltskurven (Abb. 1) als Ausdruck der verschiedenen gewählten Lagerungsbedingungen. Während sich unter konstanten Verhältnissen der Wassergehalt nach einer gewissen Zeit auf ein Niveau eingespielt hat, ist dieser bei einer unter wechselnden atmosphärischen Bedingungen (A in der Wetterhütte) exponierten Probe ein Ausdruck des schwankenden Dampfdruckes der freien Atmosphäre. Die Wassergehaltskonstanz wird bei einem Wasserentzug (Bedingungen B, C und F) nach etwa drei Monaten erreicht. Diese Kurven fallen zunächst stetig ab. Je nach der Dampfdruckdifferenz zwischen Außenmedium und Sameninnern ist der Endgehalt an Wasser bei B, C und F größer oder kleiner. Bei Lagerung unter feuchten Verhältnissen (D, E) wird das Gleichgewicht des Wassergehaltes schon nach etwa einem Monat erreicht.

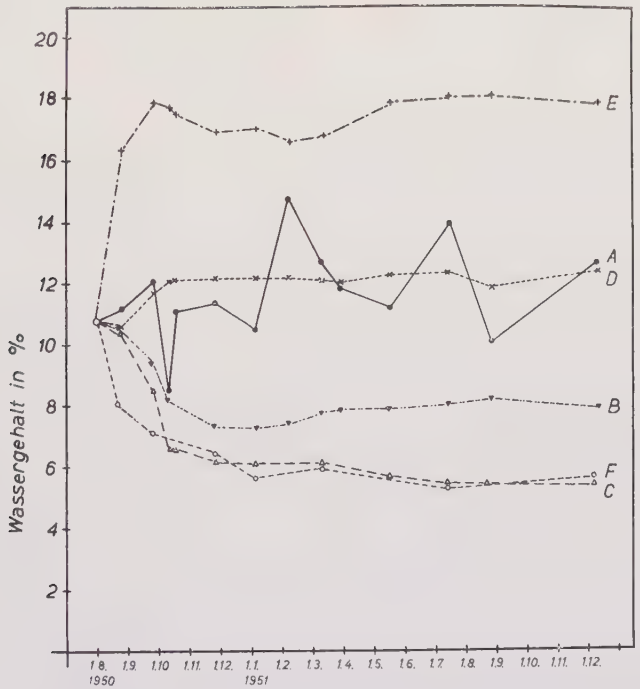


Abb. 1. Kurven des Wassergehaltes des Versuchsmateriales unter den verschiedenen Aufbewahrungsbedingungen (A bis F)

Wir haben also für den Beizakt mit anschließender Trocknung einerseits Material vorliegen, das unter verschiedenen Temperatur- und Dampfdruck-Verhältnissen über lange Zeit hinsichtlich der exogenen Faktoren konstante Voraussetzungen hatte (Bedingungen C bis F); andererseits unter Wechselbedingungen gelagertes (Bedingungen A und B). Für das letztere würden die ermittelten Frequenz- und Amplituden-Schwankungen des Wassergehaltes durch dichtere Folge der Messungen sicherlich noch größer werden.

b) Die Wirkung des Heißwasserbades auf Keim- und Triebkraft im Laufe der Samenruhe

Alle Proben wurden einheitlich dem Quellungs-Hitze-Reiz unterzogen und nach anschließender Rücktrocknung zur Keim- und Triebkraftprüfung angesetzt. Die Triebkraftprüfung stellt eine erschwerte Bedingung für die einzelne Karyopse dar, so daß auch noch schwache Beeinflussungen, die durch das Heißwasserbad auf die Keimung ausgeübt wurden, erfaßt werden können (GASSNER 1926). Die in den ersten acht Wochen, vor Beginn der Lagerungsversuche, ermittelten Keim- und Triebkraftprozente sind in den Abb. 2 und 3 dargestellt. Dabei zeigt sich, daß bis in die zweite Hälfte des Monates August der Beizaktsowohl die Keim- als auch die Triebkraft erhöht. Denn während bei den unbehandelten Kontrollen die Kurven langsam und stetig im Laufe der Nachreifeperiode ansteigen, kann durch den Hitze-Quellungs-Trocknungsreiz eine Erhöhung der Keimgeschwindigkeit sowie eine Verbesserung der Gesamtkeimkraft erzielt werden. Einen ähnlichen Effekt beobachtete RUGE (1951) bei Trockenerhitzung von Malvensamen. Für das Beizverfahren nach JENSEN hat diese Beobachtung bereits LAKON (1917) gemacht. Überraschend ist bei den Weizenkaryopsen jedoch, daß nach Erreichen der vollen Keimfähigkeit, nach Beendigung der Nachreifeperiode also, eine Umkehrung der Verhältnisse eintritt, die sich in der graphischen Darstellung als Schnitt der Kurven von Kontrolle und Versuch zeigt: die Sensibilität der Weizenkaryopsen für das Heißwasserbad steigt nach Erreichen der vollen Keimkraft so an, daß ab September die Versuchskurven stets unter den Kontrollkurven liegen. Dieser Befund ist sowohl in der Keim- als auch in der Triebkraftprüfung gesichert.

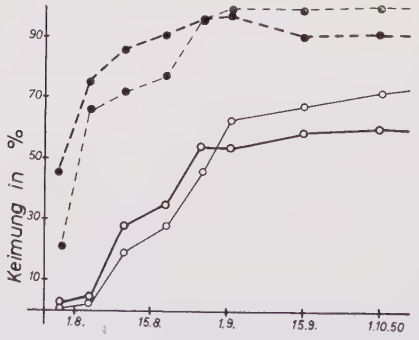


Abb. 2. Keimprüfung im Laufe der Nachreife. Keimgeschwindigkeit: ausgezogene Kurven; Keimfähigkeit: gestrichelte Kurven; Kontrollen: dünne Linien; heißwasserbehandelte Proben: dicke Linien

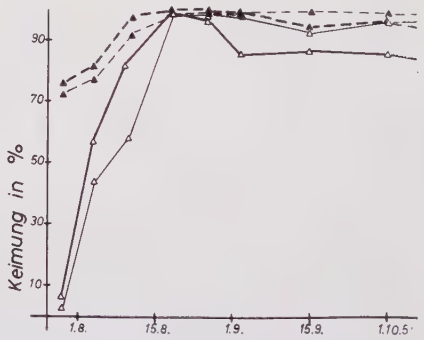


Abb. 3. Triebkraftprüfung im Laufe der Nachreife. Triebgeschwindigkeit: ausgezogene Kurven; Triebkraft: gestrichelte Kurven; Kontrollen: dünne Linien; heißwasserbehandelte Proben: dicke Linien

Das Verhalten der Weizenkaryopsen gegenüber Heißwasserbädern im weiteren Verlauf der Samenruhe (ab Oktober) ist in den Abb. 4 und 5 dargestellt. Um die Reaktion zu erfassen, welche auf Grund der verschiedenen

Außenbedingungen während der Keimruhe zu erwarten ist, wurden die bereits beschriebenen verschiedenartigen Lagerungsbedingungen für das Versuchsmaterial gewählt. Dabei zeigt sich übereinstimmend in den Lagerungsbedingungen A und B sowie D bis F, daß ein mit der Zeit fortschreitendes Schwinden der Keimfähigkeit der Kontrollen (unbehandelt) einhergeht mit einer steigenden Sensibilisierung des Versuchsmaterials gegenüber dem Heißwasserbad mit anschließender Trocknung. Unterschiedlich ist die Schnelligkeit des Abfalles der Keimkurven; neben dem hohen Wassergehalt des Lagergutes (Bedingungen E und F) führen auch Temperaturen über 18 ° C zu einer schnellen Reduktion der Keimfähigkeit. Die Keimprozente der behandelten Karyopsen bleiben stets unter denen der Kontrollen. Dieses Verhalten war zu erwarten (vgl. Crocker-Barton 1953). Neu ist jedoch, daß unter „Wechselbedingungen" (Kurve A) die Keimgeschwindigkeit der Kontrollen noch bis Jahresende ansteigt und die Werte der behandelten Samen zwar ebenfalls größer werden, die Kontrollen jedoch nicht mehr erreichen. Der Verlauf der Kurven zeigt noch eine weitere Besonderheit: Unter den offensichtlich extrem günstigen Lagerungsbedingungen C bei geringem Wassergehalt ist in den Monaten Februar bis Juli des auf die Ernte folgenden Jahres sowohl in der Kontrolle als auch im Versuch ein Ansteigen der Keim- und Triebkraftkurven zu verzeichnen. Hier ist also auch bei einem ausgesprochenen Kulturpflanzensamen noch eine echte endogene Rhythmik hinsichtlich der Keimkraft zu beobachten. Die dargestellten Beobachtungen über den Zusammenhang von Keimruhe und Heißwasserbadeffekt ergaben schließlich noch ein Resultat allgemeinerer Natur. Die Kurven D der Abb. 5 veranschaulichen, wie unter Lagerungsbedingungen, die ständig tiefe Temperaturen umfassen, zwar die Keimgeschwindigkeit stark gedrückt ist, die Karyopsen aber nach zehn Tagen noch hohe Keimprozente erreicht haben. Der Abstand zwischen den Kurven der Keimgeschwindigkeit und der Keimfähigkeit ist ein Maß für die Tiefe der Ruhe. Weizensamen, die bei 0 ± 2 ° C gelagert sind, befinden sich offenbar in großer Tiefe der Keimruhe (vgl. auch Vegis 1949).

c) Die praktische Bedeutung der Versuche

Aus den dargestellten Keimkurven ist zu ersehen, daß die Reaktion der ruhenden Weizenkaryopse gegenüber einem Heißwasserbad von 47 ° C mit anschließender 24stündiger Rücktrocknung bei 35 ° C keine einfache Funktion der Zeit und des Wassergehaltes ist. Vielmehr läßt sich für ein bestimmtes Saatgut unter definierten Lagerungsbedingungen eine Zeitspanne ermitteln, in der eine Heißwasserbehandlung mit geringsten Depressionen der Keim- und Triebkraft erfolgen kann. Das Heißwasserbad zur Flugbrandbekämpfung kann daher unter Berücksichtigung der keimungsphysiologischen Faktoren zu einem Verfahren mit geringem Risiko ausgebaut werden.

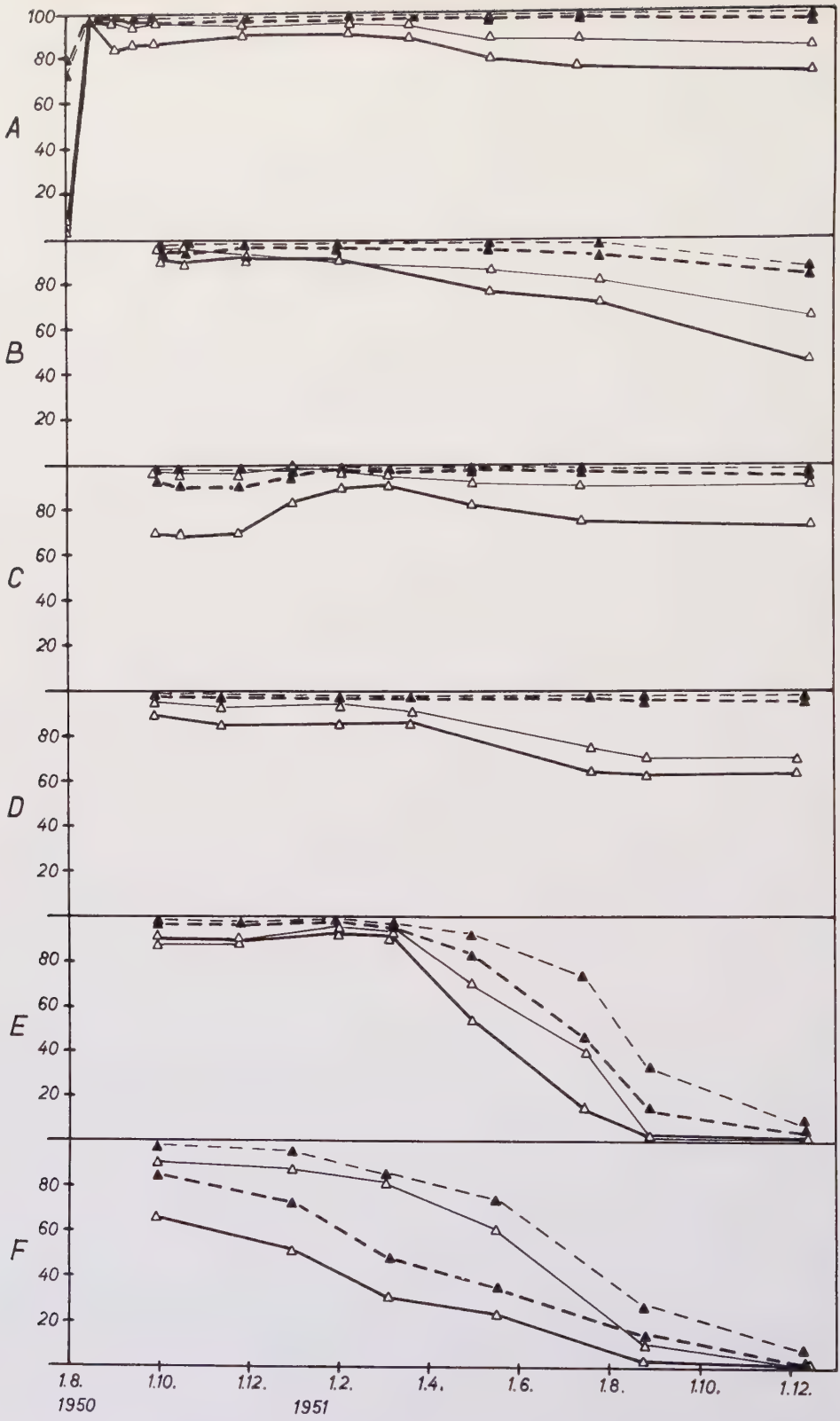


Abb. 4. Keimprüfung von Saatgut unter verschiedenen Lagerungsbedingungen. Abszisse: Zeitachse; Ordinate: Keimprozent; Zeichenerklärung: wie Abb. 2

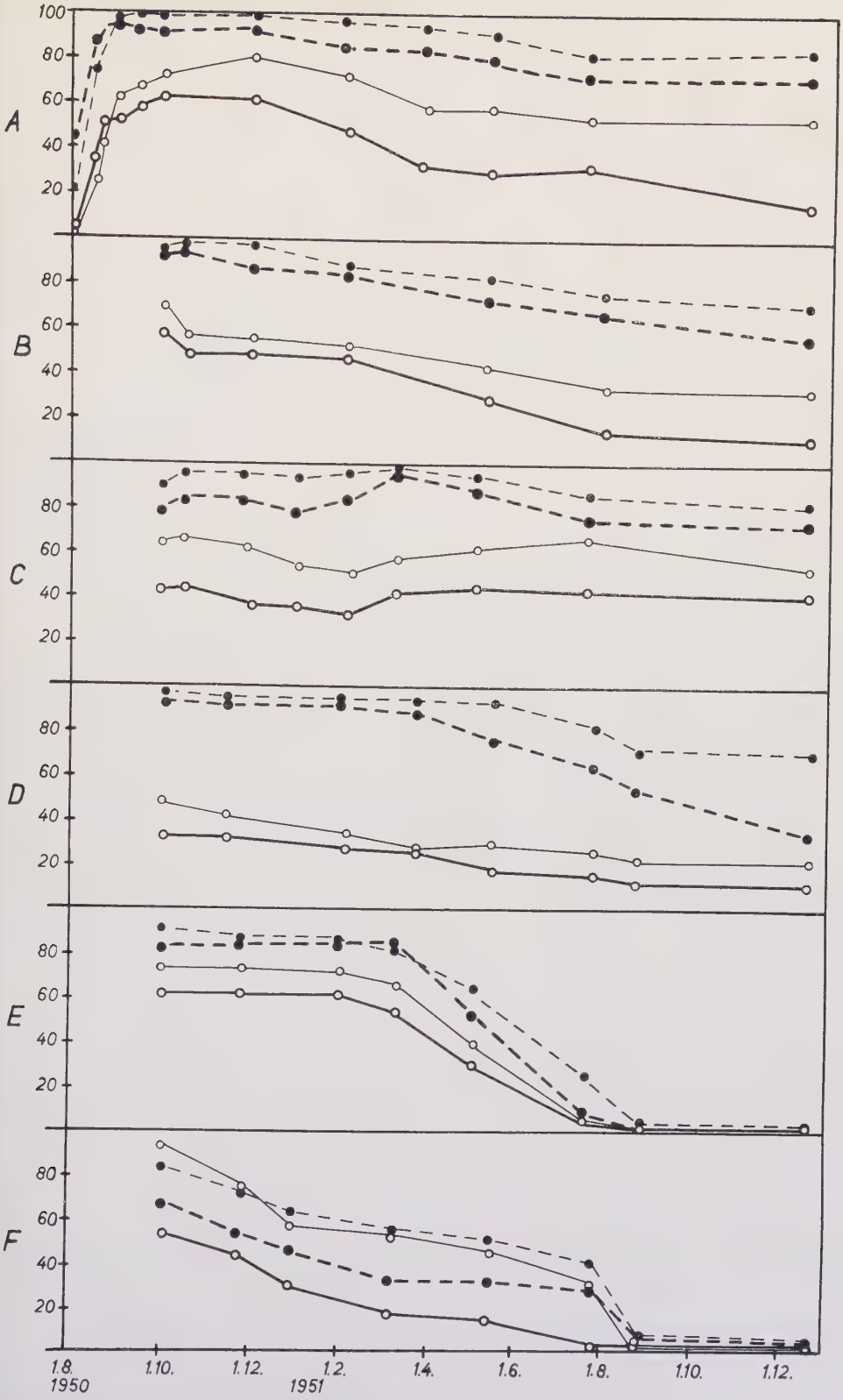


Abb. 5. Triebkraftprüfung von Saatgut unter verschiedenen Lagerungsbedingungen. Zeichenerklärung: wie Abb. 3

Literaturverzeichnis

Bünning, E.: Zur Physiologie der endogenen Jahresrhythmik in Pflanzen, speziell in Samen. Z. Naturforsch. **4 b**, 167, 1949.

— — und Müssle, L.: Der Verlauf der endogenen Jahresrhythmik in Samen unter dem Einfluß verschiedenartiger Außenbedingungen. Z. Naturforsch. **6 b**, 108, 1951.

Crocker, W. und Barton, L. V.: Physiology of seeds. Waltham 1953. 2. Aufl.

Eggebrecht: Die Untersuchung von Saatgut. Berlin 1941.

Flensberg, R.: Untersuchungen über die Warmwasserbeize, unter besonderer Berücksichtigung des Warmwasserdauerbades. Phytopathol. Z. **15**, 1, 1949.

Gassner, G.: Die Feststellung der Schädigung des Saatgutes durch Beizmittel. Z. Pflanzenkrankh. **36**, 25, 1926.

Lakon, G.: Notiz über die Wirkung des Heißwasserbeizverfahrens auf die Keimfähigkeit der Getreidefrüchte. Z. Pflanzenkrankh. **27**, 18, 1917.

Linskens, H. F.: Untersuchungen über die Änderung des physiologischen Verhaltens von Weizen- und Gersten-Samen nach Heißwasser-Bädern. Züchter **20**, 168, 1950.

— —: Über den Trocknungsprozeß an progressiven Keimstadien. Angew. Bot. **26**, 255, 1952.

Porodko, Th. M.: Über die Absterbegeschwindigkeit der erhitzten Samen. Ber. Dt. Bot. Ges. **44**, 71, 1926.

Ruge, U. und Liedtke, D.: Zur periodischen Keimbereitschaft einiger Malven-Arten. Ber. Dt. Bot. Ges. **64**, 141, 1951.

Schmidt, H.: Beobachtungen über Beizschäden im Wechsel der Jahreszeiten und ihre etwaigen Beziehungen zum Wuchsstoffproblem. Ber. Dt. Bot. Ges. **62**, 17, 1951.

Vegis, A.: Einfluß der Aufbewahrungstemperatur auf die Aktivität der Knospen nach beendeter Winterruhe. Physiologia Plantarum **1**, 117, 1949.

Für freundliche Hilfe bei der Durchführung der Versuche danke ich Felicitas Gräfin Gneisenau, Fräulein Gisela Schmölder, Fräulein Lene Vogt; für die Anfertigung der Abbildungsvorlagen Fräulein A. Vennekohl.

Aus der Forschungsabteilung für Pflanzenschutz der Farbwerke Hoechst A.G., vormals Meister Lucius & Brüning

Untersuchungen über Keimungsbedingungen und Bekämpfungsmöglichkeiten beim Zwergsteinbrand *(Tilletia brevifaciens)* im Laboratorium

Von

G. G. Gassner-Hoechst

In den letzten Jahren sind mehrere Arbeiten erschienen, in denen die Keimungsbedingungen der Sporen des Zwergsteinbrandes unter Laboratoriumsverhältnissen behandelt wurden. Veröffentlichungen von Holton (4, 5, 6, 7) zeigten, daß es gelegentlich gelang, Zwergbrandsporen in annähernd demselben Prozentsatz zum Keimen zu bringen wie die Sporen des gewöhnlichen Weizensteinbrandes (*Tilletia tritici* bzw. *T. foetens*); es gelang jedoch nicht, diese Versuche unter den in der Literatur angegebenen Bedingungen zu wiederholen. Durch diese Untersuchungen war aber der Beweis erbracht, daß die Zwergbrandsporen im Laboratorium keimen können. Im folgenden sollen die in der Forschungsabteilung für Pflanzenschutz der Farbwerke Hoechst A. G. gefundenen Bedingungen dargelegt werden, unter denen die Keimung der Zwergbrandsporen regelmäßig in einem für Beizversuche erforderlichen Prozentsatz ausgelöst werden kann.

In Anbetracht der Gefährdung des Winterweizenanbaus in bestimmten Gegenden Deutschlands durch verstärktes Auftreten des Zwergsteinbrandes wurde auf Anregung von Herrn Prof. Rademacher die Prüfung der Bekämpfungsmöglichkeiten dieser Getreidekrankheit aufgenommen. Die in den Versuchen verwendeten Zwergbrandähren waren z. T. 1951 von Herrn Dr. Staudermann bei Ingolstadt gesammelt, z. T. von Herrn Dr. Wagner in Bayreuth zur Verfügung gestellt. Für die freundliche Überlassung des Materials sei bestens gedankt. Die ab Herbst 1952 verwendeten Zwergbrandsporen stammen aus der Umgebung von Ingolstadt.

Versuchsmethode

Die Keimversuche wurden in den für die Prüfung von Trockenbeizmitteln üblichen, mit geschlämmter Lehmerde gefüllten Petrischalen von 10 cm Durchmesser durchgeführt, nachdem die Erde auf 80 % der Wasserkapazität

bei Zimmertemperatur zurückgetrocknet war. Jede Brandbutte wurde mikroskopisch untersucht, so daß mit Sicherheit nur Zwergbrandsporen in die Versuche gelangten. Die Sporensuspension — auf 1 ccm destilliertes Wasser eine Zwergbrandbutte — wurde mit Tuschepinsel auf die feuchte Lehmerde aufgetragen. Die Petrischalen blieben während des Versuches geschlossen. Sämtliche Versuche liefen in mindestens dreifacher Wiederholung.

Die Kontrolle der Sporenkeimung erfolgte in der üblichen Weise unter binokularer Lupe; die Zeitabstände der Ablesungen betrugen in der Regel eine Woche. Die Sporenkeimung wurde bonitiert, wobei 0 keine Keimung, 4 sehr starke Keimung bedeutet. Bei den in Dunkelheit aufbewahrten Versuchen wurde die Kontrolle der Sporenkeimung unter Ausschluß des Tageslichtes vorgenommen.

Keimversuche

Versuch: Aufstellung im dunklen Kühlschrank bei + 14° C.
Ergebnis: Nach acht Wochen Versuchsdauer keine Keimung.

Versuch: Aufstellung im dunklen Kühlschrank bei + 5° C.
Ergebnis: Nach acht Wochen Versuchsdauer keine Keimung.

Da bei Aufstellung im Kühlschrank unter verschiedenen Temperaturen keine Keimung der Sporen im Laufe von acht Wochen zu erreichen war, wurde der nächste Versuch unter Bedingungen durchgeführt, die den natürlichen Verhältnissen möglichst nahe kommen sollten.

Versuch: Aufstellung unter freiem Himmel; Dauer: Ende Januar bis Mitte April. Temperaturen: zuerst um 0° C, in den Nächten Frost; ab Mitte Februar + 5 bis + 8° C, ab Mitte März Tagestemperaturen bis + 20° C, Nächte kühl.

Ergebnis:	Bonitierung der Sporenkeimung
nach 4 Wochen:	0—1
„ 6 „ :	2
„ 7 „ :	2—3
„ 9 „ :	4
„ 11 „ :	Die an den Promycelien entstandenen Konidien fusionieren.

Sonstige Beobachtungen: Nach etwa vier Wochen starkes Auftreten von Grünalgen.

Das Ergebnis dieser Versuche ließ den Schluß zu, daß die Zwergbrandsporen zur Keimung entweder Licht oder schwankende Temperaturen oder beides benötigen; ferner schienen tiefere Temperaturen von Vorteil zu sein, obwohl auch Schwankungen bis + 20° C ertragen wurden.

In den folgenden Versuchen wird der Einfluß von Licht und schwankender Temperatur näher untersucht.

Versuch: Aufstellung in wassergekühltem Tageslichtkasten (Holzkasten mit schräg aufgesetzter Glasscheibe, die mit Leitungswasser berieselt wird); dieser Tageslichtkasten stand unter freiem Himmel.

Temperaturen: + 5 bis + 14° C; im Tageslichtkasten vier Wochen, weitere Aufbewahrung in dunklem Kühlschrank bei + 14° C.

Ergebnis:	Bonitierung der Sporenkeimung
nach 4 Wochen:	0—1
„ 5 „ :	2
„ 6 „ :	3
„ 7 „ :	4

Sonstige Beobachtungen: Nach etwa vier Wochen starkes Auftreten von Grünalgen.

Versuch: Aufstellung wie in vorhergehendem Versuch, aber Schalen in lichtsicherer Umhüllung.

Ergebnis: Nach 12 Wochen Versuchsdauer keine Keimung.

Versuch: Aufstellung in wassergekühltem Tageslichtkasten unter freiem Himmel. Temperaturen + 5 bis + 14° C; im Tageslichtkasten vier Wochen, weitere Aufbewahrung in dunklem Kühlschrank bei + 5° C.

Ergebnis:	Bonitierung der Sporenkeimung
nach 4 Wochen:	0—1
„ 5 „ :	2
„ 6 „ :	3—4, einzelne Schalen fast 4.

Sonstige Beobachtungen: Nach etwa vier Wochen starkes Auftreten von Grünalgen.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß ohne Belichtung eine Keimung der Zwergbrandsporen nicht erreicht werden konnte. Weiterhin sind Temperaturen um + 5° C, wenigstens in den ersten Wochen, zur Keimung unbedingt nötig; ein zeitweiliges Überschreiten dieser Temperatur ist, wenn es nicht zu lange ausgedehnt wird, auf die Keimung ohne Einfluß.

Um die Frage zu klären, ob die im Tageslichtkasten auftretenden Temperaturschwankungen einen fördernden Einfluß auf die Keimung der Zwergbrandsporen haben, wurde in einem Kühlschrank eine Quecksilberdampflampe mit Leuchtstoffbelag (75 Watt) eingebaut.

Versuch: Aufstellung im Kühlschrank bei + 5° C unter Dauerbelichtung einer Quecksilberdampflampe mit Leuchtstoffbelag.

Ergebnis:	Bonitierung der Sporenkeimung
nach 4 Wochen:	2—3
„ 4½ „ :	3—4
„ 6 „ :	3—4

Sonstige Beobachtungen: Nach etwa drei Wochen starkes Auftreten von Grünalgen, nach vier Wochen leichtes Vermoosen.

Versuch: Aufstellung wie im vorhergehenden Versuch, aber Schalen in lichtsicherer Umhüllung.

Ergebnis: Nach vier Wochen keine Keimung.

Diese Versuche zeigen, daß auch unter künstlicher Belichtung und konstanter Temperatur die Keimung der Zwergsteinbrandsporen ausgelöst werden kann, daß also Temperaturschwankungen, wie sie in dem Tageslichtkasten auftreten, für die Keimung der Zwergbrandsporen nicht erforderlich sind. Offen blieb dagegen vorläufig noch die Frage, ob außer niedriger Temperatur das Licht allein der für die Keimung notwendige Faktor ist, oder ob die in der Lehmerde befindliche Mikroflora des Bodens durch die Belichtung so beeinflußt wird, daß geeignete Stoffwechselprodukte die Keimung der Zwergbrandsporen auslösen, also eine indirekte Lichtwirkung vorliegt.

Diesbezügliche Versuche ergaben, daß Sporen im Laufe von vier Wochen im Kühlschrank bei + 5° C unter Dauerlicht (s. o.) nicht keimten, wenn sie in Lehmerdeschalen ausgestrichen wurden, die drei Stunden im Dampfsterilisator 120° C ausgesetzt worden waren; in Parallelversuchen in Schalen mit lebender Lehmerde keimten die Zwergbrandsporen in diesem Zeitraum. Um weiter die Abhängigkeit der Keimung von der Bodenflora zu untersuchen, wurden Schalen, die bereits vor zwei Monaten im Tageslichtkasten

Aufstellung	Bonitierung nach sechs Wochen	
	Aussehen der Petrischalen	Sporenkeimung
Kühlschrank, hell	Starker Algen- und Moosbesatz	3
„ „	Starker Algen- und Moosbesatz	3—4
„ Kontrollschale mit frisch geschlämmter Lehmerde	Mäßiger Algen- und Moosbesatz	2—3
Kühlschrank, dunkel	Grünalgen verschwunden, nur braune Überreste sichtbar	0—(1)
„ „	„ „ „	0—(1)
„ Kontrollschale mit frisch geschlämmter Lehmerde	Keine Bodenflora sichtbar	0

bei Beizversuchen als unbehandelte Kontrollschalen gedient hatten und einen starken Besatz mit Grünalgen aufwiesen, neben dem alten Ausstrich erneut mit Sporensuspensionen versehen. Ein Teil der Schalen wurde im Kühlschrank sechs Wochen lang bei + 5° C Dauerlicht ausgesetzt, der andere bei gleicher Temperatur lichtsicher aufbewahrt.

Berücksichtigt man, daß der Beginn der Sporenkeimung in allen Versuchen zeitlich mit dem Auftreten von Grünalgen zusammenfällt, so besteht die Möglichkeit, daß von der Bodenflora gebildeter Sauerstoff die Keimung auslöst. Daß Sauerstoff-abspaltende Verbindungen die Keimung fördern, zeigen die Resultate der nächsten Versuche:

Einfluß von Kaliumpermanganat auf die Keimung belichteter Zwergbrandsporen im Tageslichtkasten:

Auf den Sporenausstrich in jeder Versuchsschale wurde je ein Tropfen 10 %, 7,5 %, 5 % und 2,5 % $KMnO_4$-Lösung gebracht. Das Ergebnis war in allen Schalen bei allen Konzentrationen auf der Tropfstelle eine deutliche Förderung der Sporenkeimung im Vergleich zu unbehandelten Schalen und unbehandelten Flächen.

Aus diesem Versuch ergibt sich, daß dem Sauerstoff eine wichtige Rolle beim Auslösen der Keimung von Zwergbrandsporen zukommt. Von Interesse war jetzt die Frage, ob eine Keimung nur mit Sauerstoff, aber ohne Belichtung erreicht werden konnte.

Versuch: Zwergbrandsporen wurden zwei Stunden in $KMnO_4$-Lösungen getaucht und mit der Lösung in Lehmerdeschalen ausgestrichen. Aufstellung im Kühlschrank bei + 5 bis + 6° C. Versuchsdauer sechs Wochen.

Serie I: Aufstellung im Kühlschrank bei + 5 bis + 6° C unter Dauerbelichtung

	Konz.-%	Bonitierung der Sporenkeimung
Unbehandelt	—	2—3
$KMnO_4$	0,3	4
„	0,15	4
„	0,075	4
„	0,0375	4
„	0,018	4
„	0,009	3

Serie II: Aufstellung im Kühlschrank bei + 5 bis + 6° C in lichtdichter Umhüllung

	Konz.-%	Bonitierung der Sporenkeimung
Unbehandelt	—	0
$KMnO_4$	0,3	0—(1)
„	0,15	0
„	0,075	0
„	0,0375	0—(1)
„	0,018	0
„	0,009	0—(1)

Dieses Ergebnis zeigt, daß unter gleichen Temperaturverhältnissen Kaliumpermanganat in den hier angewendeten Konzentrationen ohne Belichtung praktisch wirkungslos ist, während unter künstlicher Belichtung entsprechend dem vorhergehenden Versuch (Tageslicht) eine deutliche Steigerung der Keimprozente erreicht wurde. Ferner zeigt dieses Versuchsergebnis, daß ein Lichtreiz zur Auslösung der Sporenkeimung notwendig ist. Kaliumpermanganat wirkt zwar keimungsfördernd, ist aber — bei der hier angewandten Versuchsmethode und in den geprüften Konzentrationen — allein nicht in der Lage, die Zwergbrandsporen zum Keimen zu bringen. Belichtung ohne ausreichende Sauerstoffzufuhr, z. B. auf sterilisierten Lehmerdeschalen, vermag ebenfalls nicht die Keimung beim Zwergsteinbrand auszulösen. Erst das Zusammenwirken von Licht und Sauerstoff — eventuell noch mit Wirkstoffen der Bodenflora — schafft die notwendigen Voraussetzungen für die Keimung der Zwergbrandsporen.

Zu beantworten bleiben weiterhin folgende Fragen:

1. Notwendigkeit von Wirkstoffen der Bodenflora für die Keimung der Zwergbrandsporen,
2. Belichtungsdauer und Intensität der Belichtung,
3. Spektrum der wirksamen Strahlung,
4. größte Wirkung der Belichtung in verschiedenen Vor-Keimungsstadien.

In den unter Lichteinwirkung durchgeführten Versuchen wechselten die Sporen nach etwa 14 Tagen ihren tief dunkelbraunen Farbton über hellbraun in ein blasses bräunliches Gelb; unter gleichen Bedingungen geprüfte Sporen von *Tilletia tritici* blieben dagegen bis Versuchsende dunkelbraun gefärbt. Auch die nicht belichteten Sporen des Zwergbrandes, die mit Kaliumpermanganat behandelt worden waren, blieben bis zum Ende der Versuche tief dunkelbraun. Die für die Zwergbrandsporen typische hyaline Schleimschicht, die in verdünnter Tusche unter dem Mikroskop sehr gut zu beobachten ist (WARMBRUNN 11), konnte nach Verfärbung der Sporen nicht mehr festgestellt werden. Die Promycelien sehen denen von *Tilletia tritici* sehr ähnlich, sind aber im ganzen etwas zarter; der Kranzkörper besteht ebenfalls aus meist vier Paaren endständiger Konidien.

Diskussion

Es ist schon länger bekannt, daß Lichtreize eine stimulierende Wirkung auf die Keimung von Brandsporen haben. So schreibt RABIEN (8), daß bei konstanten Temperaturen durch hohe Lichtintensitäten eine deutliche Förderung der Sporenkeimung bei *Tilletia tritici* bewirkt wird. Er führte diese Keimungsförderung auf eine Erhöhung der Sauerstoffspannung in den Versuchsschalen durch die Bodenflora zurück. Die Wahrscheinlichkeit einer

Erhöhung des Sauerstoffgehaltes in den Lehmerdeschalen ist auch in den Keimversuchen mit Zwergsteinbrandsporen infolge Aktivierung der Bodenflora durch Belichtung gegeben, vor allem, wenn man die bei der langen Versuchsdauer auftretende Algenbildung berücksichtigt. Daß aber dem Sauerstoff allein eine entscheidende Bedeutung nicht zukommt, zeigen Versuche von WARMBRUNN (11), die auf Calciumnitrat-Lösungen mit negativem Ergebnis durchgeführt wurden.

Auch die von WAGNER (10) und anderen Autoren an stark mit Zwergbrandsporen infiziertem Weizen angeführten Feldversuchsergebnisse lassen darauf schließen, daß Sauerstoff allein keine Auslösung der Sporenkeimung herbeiführen kann; Korninfektion erwies sich als praktisch unmöglich, während Bodeninfektion, bei der ein Teil der Zwergbrandsporen dem Licht ausgesetzt ist, hohen Zwergsteinbrandbefall hervorrief. Aus diesem Versuchsergebnis kann geschlossen werden, daß Licht, sauerstoffreiche Luft oder eine durch Licht bedingte Sauerstoff-produzierende Mikroflora oder eine Kombination dieser drei Faktoren — wenn man von geeigneten Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnissen absieht — die Keimung der Zwergsteinbrandsporen bewirkt.

Unter den verschiedenen Standortverhältnissen fördern, wie WARMBRUNN (11) berichtet und durch eigene Feldbeobachtung bestätigt werden konnte, folgende das Auftreten eines erhöhten Zwergsteinbrandbefalles:

1. Saurer humoser Boden,
2. Staunässe.

Da Böden, in denen durch Staunässe die Luftzirkulation reduziert ist, einen stärkeren Zwergsteinbrandbefall aufweisen als umliegende trocknere und besser mit Sauerstoff versorgte, kann der im Boden befindliche Sauerstoff nicht der entscheidende Faktor zur Auslösung der Keimung von Zwergsteinbrandsporen sein, wenn man annimmt, daß die Zwergbrandsporen im Boden auskeimen können. Als keimungsfördernder Faktor käme unter diesen Umständen nur die hohe Feuchtigkeit in Frage. Alle Laboratoriumsversuche zeigten aber, daß zur Keimung der Zwergbrandsporen — neben ausreichender Feuchtigkeit — Licht und Sauerstoff unbedingt notwendig sind. Es ist also mit Sicherheit anzunehmen, daß nur die an der Oberfläche liegenden Zwergbrandsporen, die Licht und Sauerstoff zur Verfügung haben, keimen können. Die bei Staunässe gegebene Feuchtigkeit wirkt fördernd auf die Keimung der Zwergbrandsporen, wie Laboratoriumsversuche auf Lehmboden mit verschiedenem Feuchtigkeitsgehalt zeigten.

Weiter schreibt WARMBRUNN (11): „Nach den Erfahrungen des Jahres 1949 ist aber anzunehmen, daß der Randbefall nicht so sehr auf die Bodenfestigung zurückzuführen ist, als vielmehr auf die Belichtungs- und insbesondere die Standraumverhältnisse. Der Lichteinfall vom Rand her bis etwa 2 m tief ist erheblich stärker als im Feldinnern, zumal am Rand auch der Stand oft lückiger ist. Nach HIRLING (3) geht die verstärkte Lichteinwirkung so weit, wie der Bestand hoch ist. Zusätzlich konnte beobachtet werden, daß der Randbefall besonders dann stärker war, wenn sich an den Feldrand ein Weg, eine Wiese oder Schafweide anschloß, also keine hochwachsende Kultur wie andere Halmfrüchte. 1949 war in einem stark befallenen Feld mit Walthariweizen in Waldhausen infolge eines Säefehlers

eine Drillreihe in etwa 60 m Länge ausgefallen. Zu beiden Seiten dieser freien Reihe wurde der Zwergsteinbrand in Stärke von 4, 5 und sogar 11 % festgestellt, während er im übrigen Feld nur etwa durchschnittlich 1 % ausmachte.

Zur Erklärung des stärkeren Randbefalls mußte insbesondere davon ausgegangen werden, daß der Bestand dort im allgemeinen lückiger ist als im Feldinnern; Lückennachbarn aber haben nicht nur bessere Licht-, sondern auch bessere Standraum- und ausreichende Ernährungsverhältnisse. Infolgedessen wachsen diese Pflanzen langsamer und bestocken sich stärker."

Mit diesen Feldbeobachtungen wird bereits auf die Möglichkeit hingewiesen, daß die Lichtverhältnisse einen Einfluß auf den Zwergsteinbrandbefall haben.

Laboratoriumsversuche zur Bekämpfung des Zwergsteinbrandes

Die Ergebnisse der vorher beschriebenen Keimversuche geben die Möglichkeit, im Laboratorium Untersuchungen zur Bekämpfung des Zwergsteinbrandes anzustellen und folgende Fragen zu klären:

a) Können Beizmittel die am Weizenkorn haftenden Zwergsteinbrandsporen am Auskeimen hindern, und läßt sich durch Beizung eine weitere Verschleppung des Zwergsteinbrandes mit dem Saatgut vermeiden?

b) Besteht Aussicht, daß mit Bodendesinfektionsmitteln der Zwergsteinbrand auf verseuchten Feldern wirksam bekämpft werden kann?

Prüfung von Beizmitteln

Der mit Zwergbrandsporen stark eingepuderte Weizen wird mit der angegebenen Menge des zu prüfenden Beizmittels behandelt. Die Körner werden mit dem Bart etwa 2 bis 3 mm tief in die wie anfangs erwähnt hergerichteten Lehmerdeschalen eingedrückt, so daß ein großer Teil der am Bart haftenden Sporen und auch des Beizmittels in der Tupfstelle hängen bleibt

Beispiel: Weizensorte: Carsten V.
Sporenherkunft: Ingolstadt.
Infektion: 5 ‰.
Aufstellung: Tageslichtkasten bei + 5 bis 14° C.

	Keimung der Sporen:		
	1. Kontrolle nach 5½ Wochen	2. Kontrolle nach 7½ Wochen	3. Kontrolle nach 9 Wochen
Unbehandelt	0—1	3	3—4
Tritisan 200 g/100 kg	0	0	0
„ 150 g/100 kg	0	0	0

Das Ergebnis dieses Versuches zeigt, daß metallfreie Beizmittel die Keimung der am Korn haftenden Zwergbrandsporen unterdrücken können. Offen bleibt die Frage, ob die Beizung eine Verseuchung der Felder mit zwergbrandinfiziertem Weizen verhindert.

In den vorher beschriebenen Versuchen wurde bewiesen, daß zur Keimung der Zwergbrandsporen u. a. der Faktor Licht von ausschlaggebender Bedeutung ist. Es besteht nun die Möglichkeit, daß die am Saatgut haftenden Zwergbrandsporen, die ja im Dunklen nicht auskeimen, trotz Beizung überdauern — die Lagerfähigkeit von Zwergbrandsporen im Erdboden ist bislang unbekannt — und keimen, sobald sie durch Pflügen oder Eggen dem Licht ausgesetzt werden. Bevor also nicht die Frage der Lebensdauer der am Korn verschleppten Sporen im Ackerboden geklärt ist, läßt sich nicht entscheiden, ob Beizung mit den heute üblichen Trockenbeizmitteln eine weitere Verseuchung der Felder durch am Korn verschleppte Sporen ausschließt.

Prüfung von Bodendesinfektionsmitteln

Eine Sporenaufschwemmung wird als ungefähr 3 cm breiter Streifen in Lehmerdeschale mit Tuschepinsel aufgetragen. Die so vorbereitete Petrischale wird unter einer Lang-Welte-Glocke mit dem Bodendesinfektionsmittel in der gewünschten Hektar-Aufwandmenge bestäubt und wie oben beschrieben dem Licht und niedriger Temperatur ausgesetzt.

Beispiel:

Sporenherkunft: Ingolstadt.
Konzentration der Sporenaufschwemmung: Zwei Brandbutten je ccm destilliertes Wasser.
Aufstellung: Tageslichtkasten bei + 5 bis 14° C.

	Keimung der Sporen:		
	1. Kontrolle nach 6 Wochen	2. Kontrolle nach 8 Wochen	3. Kontrolle nach 10 Wochen
Unbehandelt	2	4	4
Brassicol 50 kg/ha	0	0	0
„ 25 kg/ha	0	0	0

Das Resultat dieses Versuches läßt den Schluß zu, daß eine Bekämpfung des Zwergsteinbrandes auf verseuchten Feldern mit geeigneten Bodendesinfektionsmitteln möglich ist, wobei über die untere Grenze der Aufwandmenge nach den bisherigen Versuchen noch nichts Endgültiges auszusagen ist.

Zusammenfassung

1. Die Keimung der Zwergsteinbrandsporen hängt von Licht, Temperatur und Sauerstoff ab.
2. Als Lichtquellen bewährten sich sowohl Tageslicht als auch Dauerlicht einer Quecksilberdampflampe mit Leuchtstoffbelag; Keimversuche ohne Belichtung gelangen nicht.

3. Beträchtliche Temperaturschwankungen beeinträchtigen die Keimung nicht; im Tageslichtversuch brachten Temperaturen, die zwischen + 5° und + 14° C schwankten, gute Keimung der Sporen.
4. Bei Dauerlicht bewährten sich im Kühlschrank Temperaturen um + 5° C.
5. Als geeignete Sauerstoffquellen wird die durch Licht aktivierte grüne Bodenflora vermutet sowie Kaliumpermanganat nachgewiesen.
6. Die Keimung der Sporen setzte im Tageslichtversuch nach etwa vier Wochen ein, das Maximum wurde nach sechs bis acht Wochen erreicht; bei künstlicher Belichtung begann die Keimung nach etwa drei Wochen, das Maximum wurde nach vier bis fünf Wochen beobachtet.
7. Die Prüfung von Beizmitteln gegen Zwergsteinbrandsporen ist im Laboratorium folgendermaßen durchführbar: Abtupfen der infizierten gebeizten Körner in Lehmerdeschalen und Aufstellen unter geeigneten Licht- und Temperaturbedingungen.
8. Bodendesinfektionsmittel können in folgender Weise im Laboratorium geprüft werden: auf einen Zwergbrandsporen-Ausstrich in Lehmerdeschale wird das zu prüfende Präparat unter Lang-Welte-Glocke aufgestäubt und anschließend unter geeigneten Licht- und Temperaturbedingungen gehalten.

Literaturverzeichnis

1. FUCHS, W. H.: Der Zwergsteinbrand des Weizens. Z. f. Pflanzenkrankh. u. Pflanzenschutz **55**, 1948, 236—238.
2. HAHNE, JOS.: Untersuchungen über Keimungsbedingungen von Tilletiasporen. Kühn-Archiv **9**, 1925, 157—263.
3. HIRLING, W.: Feldrandschäden. Eine Studie über die an Feldrändern auftretenden Mindererträge durch nichtparasitäre Störungen, Pflanzenkrankheiten, Schädlinge und Unkräuter. Dissertation Hohenheim, 1949.
4. HOLTON, C. S.: Preliminary investigations on dwarf of wheat. Phytopathology **31**, 1941, 74—82.
5. — —: Chlamydospore germination in the fungus causing dwarf bunt of wheat. Phytopathology **33**, 1942, 232—235.
6. — —: Inheritance of chlamydospore and sorus characters in the species and race of *Tilletia caries* and *Tilletia foetida*. Phytopathology **34**, 1944, 586—592.
7. — —, BAMBERG, R. H. and WOORWARD, R. W.: Progress in the study of dwarf bunt of winter wheat in the pacific northwest. Phytopathology **39**, 1949, 986—1000.
8. RABIEN, H.: Über Keimungs- und Infektionsbedingungen von *Tilletia tritici*. Arb. Biol. Reichsanstalt **15**, 1927, 297—353.
9. WAGNER, F.: Über das Auftreten von Zwergsteinbrand in Bayern. Pflanzenschutz **1**, 1948, 1—2.
10. — —: Auftreten, Sporenkeimung und Infektion des Zwergsteinbrands an Weizen. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz **1**, 1950, 1—13.
11. WARMBRUNN, K.: Untersuchungen über den Zwergsteinbrand. Phytopath. Zeitschr. *19*, 1952, 441—482.

Aus der Biologischen Zentralanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Berlin-Dahlem, Abteilung für Mykologie

Untersuchungen über Feuchtigkeitsansprüche parasitischer Pilze

Von

Roswitha Schneider

Mit 10 Abbildungen

A. Einleitung

Während über die Hydraturverhältnisse der gemeinen Schimmelpilze, namentlich auch solcher, die in der Praxis bei der Verderbnis von Nahrungsmitteln und technischen Produkten eine Rolle spielen, eine Reihe von Arbeiten Aufschluß geben (Walter 1924, Groom und Panisset 1933, Galloway 1935, Heintzeler 1939, Snow, Crichton und Wright 1944, Snow 1949 u. a.), sind im Vergleich dazu unsere Kenntnisse bei pflanzenpathogenen Pilzen gering. In der phytopathologischen Literatur liegen nur wenige größere mit einwandfreier Methodik durchgeführte Untersuchungen über den Einfluß der relativen Dampfspannung auf die Sporenkeimung vor (Clayton 1942, Chowdbury 1937). Feststellungen über Myzelwachstum und Entwicklung bei verschiedenen Hydraturen sind für pathogene Pilze nicht, wohl aber für einige Schimmelpilze (Walter 1924, Heintzeler 1939) und holzzerstörende Pilze (Bavendamm und Reichelt 1938, Theden 1941) bekannt. Die genaue Kenntnis der Abhängigkeit der Lebensvorgänge parasitischer Mikroorganismen von den Feuchtigkeitsbedingungen der Umwelt ist aber nicht nur von rein wissenschaftlich-theoretischem Interesse. Auch für die Aufklärung des epidemiologischen Geschehens sind derartige Erkenntnisse von grundlegender Bedeutung, und dem mit praktischer Zielsetzung tätigen Phytopathologen liefern sie wertvolle Anhaltspunkte bei der Ausarbeitung vorbeugender pflanzenschutzlicher Bekämpfungsmaßnahmen.

B. Methodik und Material

In Anlehnung an Walter (1931) wurde oben der in entsprechenden Arbeiten der ausländischen Literatur nicht eingebürgerte Ausdruck Hydratur verwendet, worunter in Analogie zum „Wärmezustand" — Temperatur — der „Wasserzustand" verstanden wird. Als Maß für die Hydratur dient die

relative Dampfspannung. H. WALTER (1924 und 1926) konnte aufzeigen, daß die Entwicklung der Schimmelpilze nur von der Hydratur des Außenmediums, nicht vom Wassergehalt des Nährsubstrates abhängig ist. Auf diese Tatsache gründet sich eine recht bequeme Untersuchungsmethode: die Kultur in feuchter Luft von bestimmter relativer Dampfspannung. Das Objekt befindet sich hierbei auf einem festen Substrat im abgeschlossenen Luftraum (Glasgefäß) über Lösungen mit verschiedenem Dampfdruck. In der von WALTER (1924) angegebenen Versuchsanordnung, die im Prinzip auch von HEINTZELER (1939), PLOTO (1940), STILLE (1950), BURCICK (1950), übernommen wurde, dienten als Versuchsgefäße kleine runde Kammern (3 cm Durchmesser und 1,9 cm Höhe), in denen die gewünschten Hydraturverhältnisse durch Schwefelsäure bzw. Kochsalzlösungen hergestellt wurden. Die Versuchsobjekte befanden sich auf einem Nährboden auf Deckgläschen, die über die mit den Lösungen beschickten Schälchen gelegt und aufgedichtet wurden. Ein besonderer Vorteil dieser Untersuchungsmethode gegenüber der Versuchsanstellung anderer Autoren (CHOWDBURY 1934, CLAYTON 1942, SNOW 1949), die größere Versuchsgefäße verwendeten (Weckgläser, Stöpselflaschen usw.) und die Objektträger in den Kammern anbrachten, besteht darin, daß die Objekte jederzeit mikroskopisch untersucht werden können, ohne daß sie zu diesem Zweck aus den Hygrostaten herausgenommen zu werden brauchen. Als Substrat für die zu prüfenden Mikroorganismen wählten WALTER (1924), TOMKINS (1929), GROOM und PANISSET (1933), HEINTZELER (1939) u. a. die üblichen Gelatine- und Agarnährböden. CHOWDBURY (1937), GALLOWAY (1935) benutzten mit Nährlösung getränkte und getrocknete Streifen von Cellophanpapier und SNOW (1949) Gelatineblättchen, die bei 50° C 3 bis 4 Minuten in Wasser bzw. Nährlösung getaucht und anschließend auf Objektträger aufgeklebt wurden. Von einigen Autoren (TOMKINS 1929, GUBA 1938, CLAYTON 1942 u. a.) wurden auch neutrale feste Substanzen (Glas, Quarz, Paraffin, Schellack, Kanadabalsam, Dammarharz, Blattepidermis usw.), die keine Nährstoffe enthalten und lediglich als Sporenträger dienten, verwendet.

Die eigenen Versuche wurden nach der Anordnung von WALTER durchgeführt. Als Kulturgefäße dienten gewöhnliche, 3 cm weite und 1,9 cm hohe Blockschälchen mit dazu passenden, geschliffenen Deckscheiben, die bis 2 mm unterhalb des Randes mit den Lösungen gefüllt wurden. Die gewünschten relativen Dampfspannungen (= r. D.) wurden durch Schwefelsäuremischungen bewirkt, die nach den Angaben bei WALTER (1931 S. 164) gravimetrisch hergestellt und durch Messung mit dem Aräometer kontrolliert wurden. Als Substrat diente, wenn nicht besonders vermerkt, Malzextraktgelatine. Je ein Tropfen davon wurde mittels eines rechtwinklig gebogenen Platindrahtes in einem Strich über die Oberfläche der sorgfältig gereinigten und abgeflammten Deckscheibe verteilt und 24 Stunden getrocknet. Die Beimpfung erfolgte außer bei den Rostpilzen (s. S. 75) mittels einer sehr dichten Sporenaufschwemmung in destilliertem Wasser oder mit einem kreisrunden Myzelstück einer Agarplattenkultur von 4 mm Durchmesser und knapp

Tabelle 1
Liste der untersuchten Pilze

Nummer	Art	isoliert von: Wirtspflanze Befallsbild
1	*Septoria apii* (Briosi et Cav.) Chest.	Sellerie Blattflecken
2	*Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.	verpilzte abgestorbene Käfer (*Liophloeus tessulatus* Müll.)
3	*Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc.	Kartoffel Trockenfäule der Knolle
4	*Fusarium coeruleum* (Lib.) Sacc.	Kartoffel Trockenfäule der Knolle (Weißfäule)
5	*Fusarium culmorum* (W. G. Sm.) Sacc.	Weizen Fußkrankheit
6	*Fusarium lateritium* Nees	Walnuß Fruchtfäule
7	*Fusarium bulbigenum* Cke. et Mass. var. *lycopersici* (Brushi) Wr.	Tomate Welkekrankheit
8	*Fusarium lini* Bolley	Flachs Welkekrankheit
9	*Fusarium oxysporum* Schlechtendahl	Alpenveilchen Welkekrankheit
10	*Fusarium solani* (Mart.) App. et Wr.	Erbse Fußkrankheit
11	*Fusarium sporotrichioides* Sherb.	Kürbis Blütenendfäule
12	*Fusarium decemcellulare* Brick	*Hibiscus sabdariffa* Stengelfäule, sekundär
13	*Gloeosporium fructigenum* Berk.	Walnuß Fruchtfäule
14	*Helminthosporium papaveris* K. Sawada	Mohn Blattdürre
15	*Phomopsis* spec.	Walnuß Fruchtfäule
16	*Thielavia basicola* Zopf	Alpenveilchen Wurzelbräune
17	*Verticillium alboatrum* Rke. et Berth.	Mohn Welkekrankheit
18	*Ophiobolus graminis* Sacc.	Weizen Fußkrankheit
19	*Rhizoctonia solani* Kühn	Kartoffel Triebfäule

2 mm Dicke[1]). Die beimpften Deckscheiben wurden anschließend (nach dem Antrocknen des Impftropfens) mit einem Vaselinring auf den Blockschälchen befestigt und durch Bestreichen der Ränder mit aufgeschmolzenem Paraffin-Vaseline-Gemisch luftdicht verschlossen. Die Hygrostaten standen in einer temperaturkonstanten Kammer bei 20 ° C.

Für die Untersuchungen an in vitro kultivierbaren Arten wurden die in der Tabelle 1 aufgeführten Pilze ausgewählt; bis auf *Beauveria bassiana* bekannte Pflanzenschädiger, von denen die Mehrzahl von wirtschaftlicher Bedeutung ist. Darunter befinden sich Erreger von Fuß- und Welkekrankheiten, Blattflecken, Blattdürre, Frucht- und Knollenfäulen.

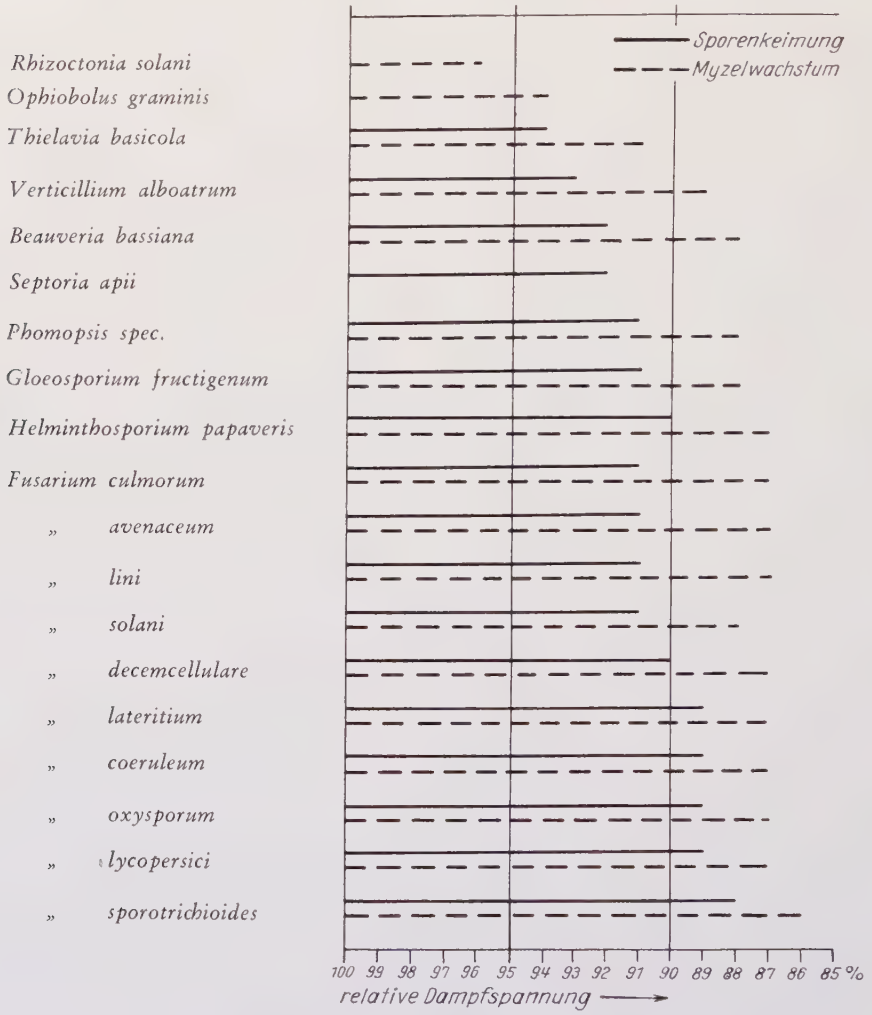


Abb. 1. Die Hydraturgrenzwerte der Sporenkeimung und des Myzelwachstums

[1]) In diesem Fall wurden die Schälchen etwas sparsamer gefüllt, so daß der Luftraum zwischen Nährboden und Lösung etwa 3 bis 4 mm betrug.

C. Untersuchungen an in vitro kultivierbaren Arten

1. Abhängigkeit der Keimung von der relativen Dampfspannung

Von erheblichem Interesse, gerade im Hinblick auf prophylaktische Maßnahmen im Pflanzenschutz, ist die Frage, innerhalb welcher Feuchtigkeitsbezirke mit dem Auskeimen der Sporen zu rechnen ist. Diesbezügliche Untersuchungen wurden an den in Tabelle 1 mit den Nummern 1—17 bezeichneten Arten vorgenommen. Die Versuchsdauer betrug bei den hohen Feuchtigkeitsstufen (100 % r. D. bis etwa 94 % r. D.) bis zu acht Tagen, bei den Feuchtigkeitsgraden nahe der unteren Grenze der Sporenkeimung mindestens acht Wochen, entsprechend den Erfahrungen von Heintzeler (1939) u. a., die bei Hydraturversuchen mit Schimmelpilzen eine erhebliche Keimverzögerung bis zu acht Wochen festgestellt haben. Da bekanntlich die Keimfähigkeit außer von dem Alter des Sporenmaterials auch von dem Zustand der Pilzkultur abhängig ist, wurde dafür Sorge getragen, daß die zur Abimpfung benutzten Ausgangskulturen sich in Hochkultur befanden, so daß immer mit frischem, gut keimfähigem Konidienmaterial gearbeitet werden konnte. Die erhaltenen Ergebnisse sind zusammen mit den Grenzwerten für das Myzelwachstum in Abb. 1 dargestellt.

Die Hydraturgrenzwerte für die Sporenkeimung liegen bei den untersuchten Arten in einem Feuchtigkeitsbereich zwischen 94 % r. D. und 88 % r. D. Der höchste Grenzwert (94 % r. D.) wurde für *Thielavia basicola* festgestellt. Dann folgen: *Verticillium alboatrum* (93 % r. D.), *Beauveria bassiana* und *Septoria apii* (92 % r. D.); *Gloeosporium fructigenum, Phomopsis* spec., *Fusarium avenaceum, F. culmorum, F. lini* (91 % r. D.); *Helminthosporium papaveris, F. decemcellulare, F. solani* (90 % r. D.). Am tiefsten liegen die Schwellenwerte bei den Fusarium-Arten: *F. lateritium, bulbigenum* var. *lycopersici, coeruleum, oxysporum* (89 % r. D.) und *sporotrichioides*

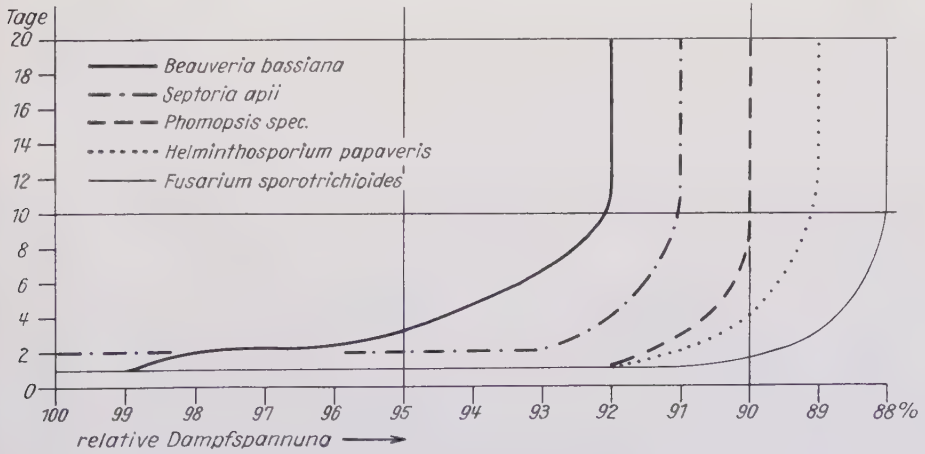


Abb. 2. Verlauf der Sporenkeimung bei verschiedener relativer Dampfspannung. Ordinate: Zahl der Tage bis zum Beginn der Keimung

(88 % r. D.). In Abb. 2 und 3 ist der Verlauf der Keimung für einige Arten in Keimkurven dargestellt. Diese zeigen den Beginn der Keimung bei verschiedener r. D. Wie nicht anders zu erwarten, erfolgte bei den hohen Feuchtigkeitsstufen ein rasches Auskeimen der Sporen. Bei den höchsten Feuchtigkeitswerten 100 % und 99,5 % verhielten sich alle hier untersuchten Pilze gleich. Unterhalb 99 % r. D. trat bei *Thielavia basicola*, *Verticillium albo-*

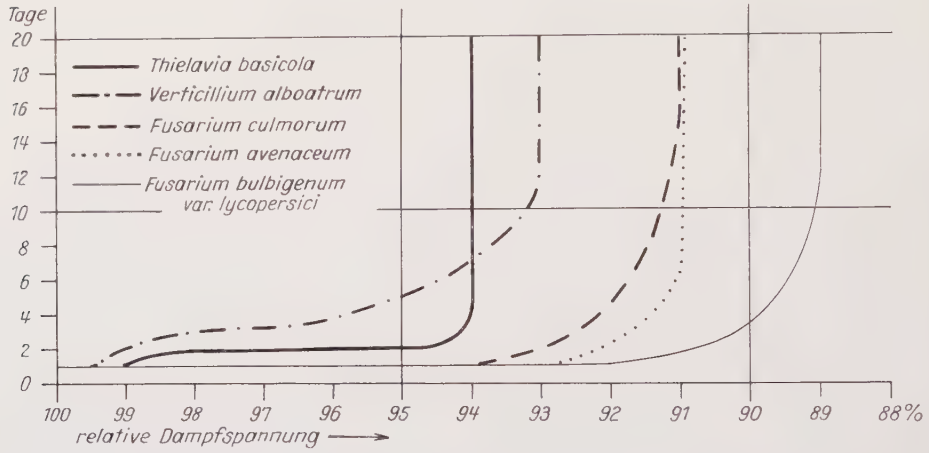


Abb. 3. Verlauf der Sporenkeimung bei verschiedener relativer Dampfspannung. Ordinate: Zahl der Tage bis zum Beginn der Keimung

atrum und *Beauveria bassiana* bereits eine deutliche Keimverzögerung in Erscheinung, die sich bei den beiden zuletzt genannten Pilzen von Stufe zu Stufe etwas stärker ausprägte, während sie bei *Thielavia basicola* zwischen 99 % und 94,5 % r. D. den gleichen Wert behielt. Bei den anderen hier untersuchten Arten erwies sich die Keimzeit innerhalb eines größeren Feuchtigkeitsbereiches unabhängig von der relativen Dampfspannung. Bereits am ersten Tage konnte hier Sporenkeimung bis mindestens 94,5 % r. D., bei *Fusarium bulbigenum* var. *lycopersici* und *Helminthosporium papaveris* bis 92 % und bei *F. sporotrichioides* bis 91 % r. D. festgestellt werden. Die Keimkurven der betreffenden Arten, die sich in ihrem Anfangsteil decken, verlaufen bis zu diesen Punkten parallel zur Abszisse, steigen dann allmählich an, bis dicht oberhalb des Grenzwertes verhältnismäßig plötzlich der Übergang aus dem horizontalen in den vertikalen Verlauf erfolgt. Vom Grenzpunkt an verlaufen die Kurven parallel zur Ordinate, womit zum Ausdruck gebracht ist, daß auch bei fortgesetzter Versuchsdauer ein Auskeimen der Sporen unterhalb des Grenzwertes nicht mehr erfolgen kann. Die Zeitdauer, die bis zum Erreichen des Schwellenwertes notwendig ist, war bei den einzelnen Arten verschieden und betrug mindestens 5 und höchstens 17 Tage. Eine Verzögerung der Keimung über drei Wochen hinaus, wie sie von HEINTZELER (1939) berichtet wird, wurde nicht festgestellt.

2. Das Myzelwachstum bei verschiedener relativer Dampfspannung

Zur Entscheidung der Frage, ob ein Pilz geeignete Lebensbedingungen antrifft, kann außer der Sporenkeimung das Myzelwachtstum als Kriterium herangezogen werden. Untersuchungen über die Abhängigkeit des Myzelwachstums von der relativen Luftfeuchtigkeit wurden an den in Tabelle 1 angegebenen Arten Nr. 2—19 durchgeführt. Um den Grad der Entwicklungshemmung bei verschiedener relativer Dampfspannung quantitativ zu erfassen, wurde die lineare Ausbreitungsgeschwindigkeit des Myzels durch tägliche mikroskopische Messungen des Koloniedurchmessers bestimmt. Die festgestellten Mittelwerte (durchschnittlicher Zuwachs des Koloniedurchmessers in 24 Stunden) wurden der besseren Vergleichsmöglichkeit halber, in Relativwerte umgerechnet, wobei die maximale Wachstumsintensität bei 100 % r. D. als einheitliche Bezugsgröße diente. Die Messungen wurden eingestellt, wenn die Pilzkolonie bei 100 % r. D. bis an den Rand des Nährbodenausstriches gewachsen war. Es sei noch vermerkt, daß die gemessenen Kolonien aus Sporen herangezogen wurden mit Ausnahme von *Rhizoctonia solani* und *Ophiobolus graminis*, die in Reinkultur nicht fruktifizieren. In diesem Fall waren die Pilzkolonien aus Myzelübertragungen entstanden. In Abb. 4—7 sind die erhaltenen Wachstumskurven zusammengestellt. Der Vergleich derselben läßt eine unmittelbare Beziehung zwischen der relativen Dampfspannung und der Wachstumsintensität erkennen. Die Wachstumsintensität war bei allen Arten bei 100 % r. D. am größten — bei einigen Arten auch noch einige Prozent darunter nicht beeinträchtigt (Abb. 7) — und nahm mit sinkender relativer Luftfeuchtigkeit kontinuierlich ab. Bei den abgebildeten Wachstumskurven ist zu berücksichtigen, daß die Schnittpunkte mit der Abszisse nicht die absoluten Hydraturgrenzwerte für das Wachstum angeben — die bei allen Arten noch etwas tiefer liegen, s. S. 66 —, sondern nur

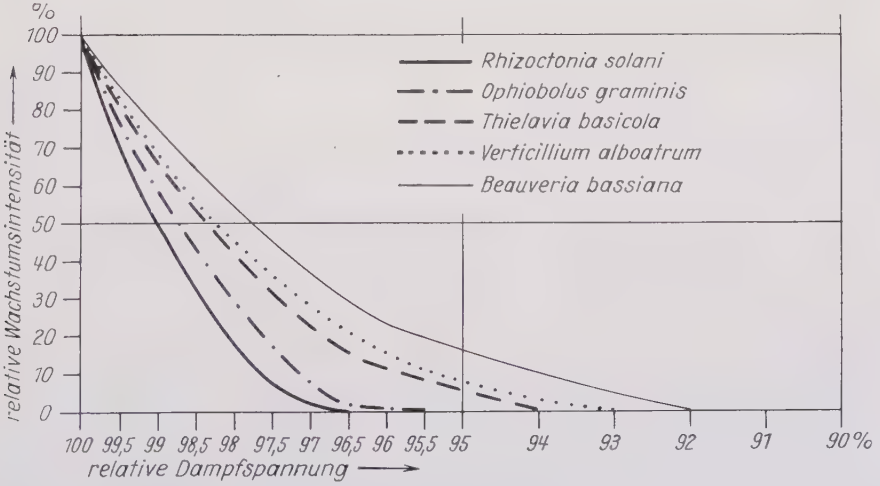


Abb. 4. Abhängigkeit der Wachstumsintensität von der relativen Dampfspannung. (Durchschnittliche Wachstumsintensität bei 100 % r. D. = 100 %)

das unter den Bedingungen dieses Versuches auftretende Hydraturminimum, wo die Entwicklung gegenüber 100 % r. D. so stark gehemmt war, daß bei Abschluß des Versuches noch keine Werte vorlagen.

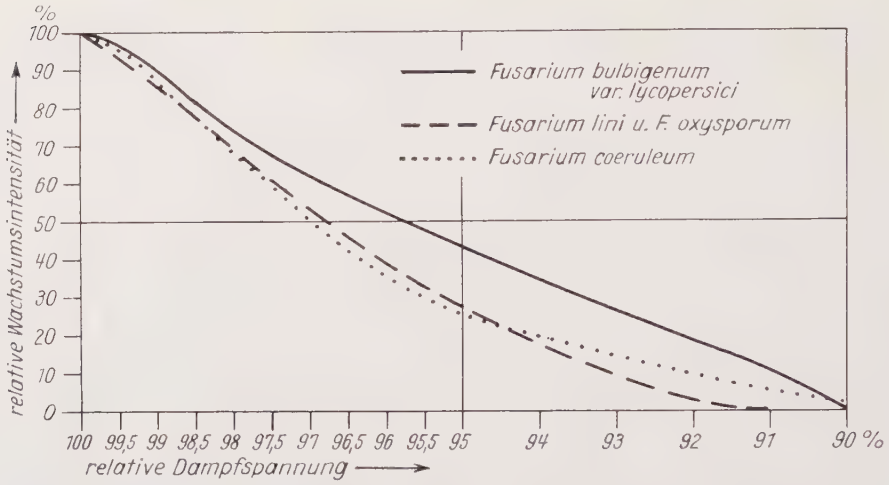


Abb. 5. Abhängigkeit der Wachstumsintensität von der relativen Dampfspannung. (Durchschnittliche Wachstumsintensität bei 100 % r. D. = 100 %)

Von den hier untersuchten Arten zeigten *Rhizoctonia solani, Ophiobolus graminis, Thielavia basicola, Verticillium alboatrum* und *Beauveria bassiana* die größten Feuchtigkeitsansprüche. Ihre Wachstumskurven (Abb. 4) zeigen verglichen mit denen der übrigen Arten (Abb. 5—7) den steilsten Abfall. Das Myzelwachstum war bei ihnen schon bei 99 % r. D. außerordentlich stark

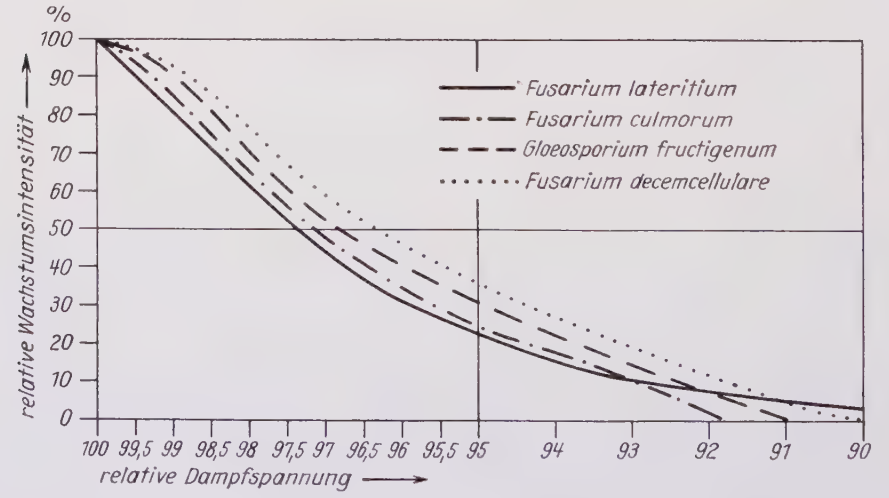


Abb. 6. Abhängigkeit der Wachstumsintensität von der relativen Dampfspannung. (Durchschnittliche Wachstumsintensität bei 100 % r. D. = 100 %)

gehemmt und um 25 % und mehr — bei *Rhizoctonia* und *Ophiobolus* sogar um 50 % und nahezu 50 % — hinter dem Maximum der Wachstumsintensität bei 100 % r. D. zurückgeblieben. Als besonders empfindlich waren *Rhizoctonia solani* und *Ophiobolus graminis* auch noch insofern gekennzeichnet, als bei ihnen das Wachstum praktisch bei 96,5 % r. D., bei einem Feuchtigkeitswert, bei dem die meisten der hier untersuchten Arten noch eine beachtliche Entwicklung hatten, zum Stillstand kam. Bei *Gloeosporium* und den Fusarium-Arten *F. bulbigenum* var. *lycopersici, oxysporum, lini, decemcellulare*, trat bereits bei den oberen Feuchtigkeitsstufen eine sehr viel geringere Wachstumshemmung (7—15 % bei 99 % r. D.) in Erscheinung. Ihre Wachstumskurven zeigen im ganzen einen wesentlich flacheren Verlauf (Abb. 5 und 6). Den stärksten Grad von Unempfindlichkeit besaßen

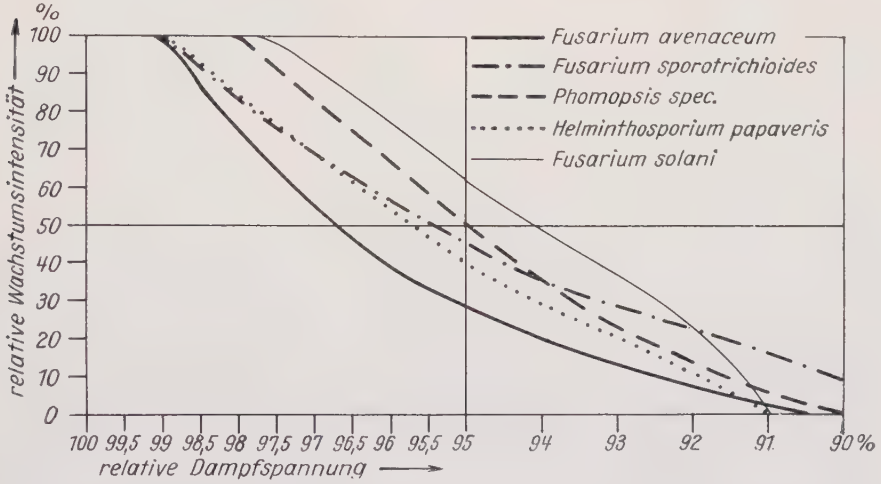


Abb. 7. Abhängigkeit der Wachstumsintensität von der relativen Dampfspannung. (Durchschnittliche Wachstumsintensität bei 100 % r. D. = 100 %)

Helminthosporium papaveris, Phomopsis spec. und die Fusarium-Arten *F. avenaceum, sporotrichioides* und *solani* (Abb. 7). Bei ihnen machte sich eine Wachstumshemmung erst unterhalb 99 % r. D. (*F. avenaceum, F. sporotrichioides, Helminth. papaveris*) bzw. unterhalb 98 % r. D. (*Phomopsis* spec., *F. solani*) bemerkbar. Das Hydraturminimum für die Entwicklung lag bei den meisten Arten unterhalb 92 % r. D. (zwischen 92 % r. D. und 90 % r. D.).

3. Die untere Hydraturgrenze für das Myzelwachstum

Es erhebt sich die Frage, ob die festgestellten Grenzwerte für die Sporenkeimung tatsächlich die absolute Feuchtigkeitsgrenze darstellen, bei der jegliche Lebenstätigkeit aufhört. Es wäre denkbar, daß das Pilzmyzel noch bei einer relativen Luftfeuchtigkeit wächst, die zum Auskeimen der Sporen nicht mehr ausreicht. Bei den Sporenkeimungsversuchen zeigte sich, daß zumindest der Keim empfindlicher gegen Trockenheit ist, als die später sich aus ihm

entwickelnde Pilzkolonie. Bei Hydraturen nahe dem Minimum traten bei der Entwicklung der Keimschläuche — sofern diese nicht sofort abstarben — regelmäßig morphologische Anomalien und teratologische Verbildungen (Blasenzellen, Sproßwachstum usw.) auf, die sich dann allmählich doch noch zu normalen Pilzkolonien auswuchsen (Abb. 8). Bei der experimentellen Behandlung der Frage wurde so vorgegangen, daß die Pilze zunächst bei 100 % r. D. gezüchtet wurden, bis die Kolonien einen Durchmesser von etwa 0,5 cm erreicht hatten. Dann wurde die Deckplatte abgehoben und die Kulturen in die entsprechenden Feuchtkammern mit niederer r. D., von der Keimungsgrenze an abwärts bis 84 % r. D., wie auf S. 64 ff. beschrieben, überführt. Um den eventuellen Myzelzuwachs auch schon makroskopisch einwandfrei feststellen zu können, wurde der Umriß der übertragenen Pilzkolonie mit einem Tuschestrich auf der Deckscheibe festgehalten. Die Versuchsdauer betrug etwa vier Monate. Abb. 8 zeigt deutlich, daß in der Tat bei allen hier untersuchten Pilzen das Myzelwachstum bei niedrigeren Feuchtigkeitsgraden möglich ist als die Sporenkeimung. Die untere Grenze für das Myzelwachstum (= absolutes Hydraturminimum) liegt bei den einzelnen Arten etwas verschieden, um zwei bis vier Prozent unterhalb der Keimungsgrenze, bei den untersuchten Pilzen zwischen 91 % r. D. und 86 % r. D. Die Entwicklung war unterhalb der Keimungsgrenze außerordentlich stark gehemmt. Innerhalb von drei Monaten wurde beispielsweise bei den Fusarium-Arten *F. lini, coeruleum, oxysporum* und *solani* an der unteren Wachstumsgrenze ein Zuwachs von etwa 5 mm bzw. 3 mm bzw. 4 mm und 1 mm erzielt. Die gleichen Werte konnten bei 100 % r. D. nach 37 Stunden bzw. 29 Stunden bzw. 34 Stunden und 5 Stunden gemessen werden. Außerdem fiel auf, daß von der Keimungsgrenze an abwärts keinerlei Sporenbildung auftrat. — Die Hydraturgrenzwerte für die Konidienbildung bei *Beauveria bassiana,*

Abb. 8. *Helminthosporium papaveris* 10 Tage bei 91 % r. D. Erklärung im Text

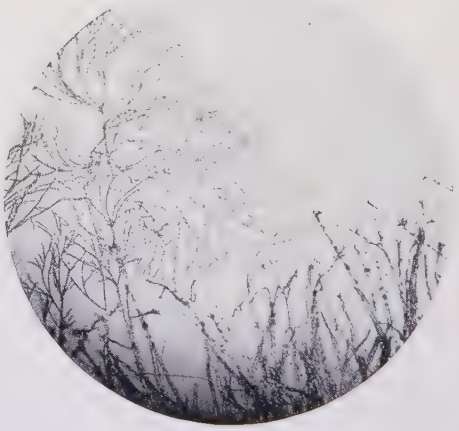


Abb. 9. Dendroide Wachstumsformen von *Gloeosporium fructigenum* 26 Tage bei 89 % r. D.

Helminthosporium papaveris und den Fusarien lagen etwa 1—2 % höher als die entsprechenden Werte für die Sporenkeimung[1]). —

Es ist bekannt, daß mit abnehmender relativer Dampfspannung nicht nur die Wachstumsintensität des Pilzmyzels herabgesetzt, sondern auch dessen morphologische Merkmale verändert werden können (Walter 1924, Heintzeler 1939). Stärkere morphologische Abweichungen und teratologische Veränderungen traten, abgesehen von einer Verkürzung der Zelle, mit zunehmender Trockenheit bei allen hier untersuchten Arten erst unterhalb der Keimungsgrenze auf. Während bis dahin das strahlige Myzelwachstum überwiegend das Bild der Kolonie prägte, kam es nunmehr zur Ausbildung von koralloiden und dendroiden Wachstumsformen. Die Randhyphen der übertragenen Kolonien wuchsen zunächst noch einige Tage ein sehr kleines Stück in der ursprünglichen Richtung weiter, ohne sich zu verzweigen, dann entstanden seitlich und terminal Aussprossungen (Abb. 9), die ihrerseits, nachdem sie zu kurzen engseptierten Zellfäden herangewachsen waren, ebenfalls Sprosse bildeten. Auf diese Weise entstanden schließlich reich verzweigte Sproßverbände und ganze „Sproßbäumchen" von der Art, wie sie in Abb. 9 von *Gloeosporium fructigenum* gezeigt werden.

4. Rückblick auf die Ergebnisse

H. Walter (1931 S. 14) unterscheidet nach den Hydraturverhältnissen drei Gruppen von Mikroorganismen:

„I. Xerophile Arten (Hydraturminimum[2]) zwischen 90 % r. D. und 85 % r. D.; Wachstumsintensität bis zu 95 % r. D. kaum gehemmt. Beispiele: *Penicillium* spec. und *Aspergillus* spec.).

II. Mesophile Arten (Hydraturminimum zwischen 95 % r. D. und 90 % r. D.; Wachstumsintensität ab 98 % r. D. oder 97 % r. D. sichtlich gehemmt. Beispiele: *Rhizopus nigricans, Phycomyces* und Hefen).

III. Hygrophile Arten (Hydraturminimum bei 95 % r. D. oder höher; Wachstumshemmung von 100 % an abwärts. Beispiele: *Merulius lacrimans,* Mehrzahl der Bakterien namentlich pathogene Formen)."

Auf Grund der in den vorangehenden Abschnitten mitgeteilten Ergebnisse lassen sich die hier untersuchten Arten in die von Walter aufgestellten Gruppen II und III einordnen. Zu den mesophilen Arten (Gruppe II) gehören die Pilze: *Septoria apii, Phomopsis* spec., *Gloeosporium fructigenum, Helminthosporium papaveris* sowie die untersuchten Fusarium-Arten (Tabelle 1 Nr. 3—12). Bei den Fusarien *F. lateritium, coeruleum, oxysporum, bulbigenum* var. *lycopersici* und *sporotrichioides* liegen allerdings die Grenzwerte für die Sporenkeimung unterhalb 90 % r. D. (89 % r. D. und 88 % r. D.); durch den Verlauf der Wachstumskurve, die deutliche Wachstumshemmung oberhalb 95 % r. D. erscheinen auch diese Pilze ausreichend als

[1]) Diese Feststellung erfolgte in einer anderen Versuchsreihe.
[2]) = Hydraturgrenzwerte für die Sporenkeimung.

mesophile Arten gekennzeichnet. Zu den hygrophilen Arten (Gruppe III) zählen *Rhizoctonia solani, Ophiobolus graminis, Thielavia basicola, Verticillium alboatrum* und *Beauveria bassiana.* Hiervon können als eigentliche Vertreter dieser Gruppe nur *Rhizoctonia solani* und *Ophiobolus graminis* angesehen werden, während die anderen Pilze, deren Grenzwerte für die Sporenkeimung unterhalb 95 % r. D. (*Thielavia bas.* 94 %, *Vert. alboatrum* 93 % r. D. und *Beauv. bass.* 92 % r. D.) liegen, bereits zu den mesophilen Arten überleiten, von denen sie sich aber insofern unterscheiden, als bei ihnen die Wachstumshemmung schon bei 99,5 % r. D. kräftig hervortritt und ihre Wachstumskurven im Vergleich zu den typischen Vertretern der Gruppe II offensichtlich steiler abfallen.

Durch diese Gruppierung wird übersichtlich zum Ausdruck gebracht, daß die Mehrzahl der hier untersuchten parasitischen Pilze in bezug auf die Hydraturverhältnisse unter den Mikroorganismen eine Mittelstellung einnimmt; mithin sich weder durch extrem hohe noch durch besonders geringe Feuchtigkeitsansprüche auszeichnet. Das gilt auch für eine Reihe von pflanzenpathogenen Arten, die von anderen Autoren untersucht und für die folgende Grenzwerte für die Sporenkeimung gefunden wurden: 90 % r. D. für *Acrothecium penniseti, Alternaria brassicae, Cladosporium herbarum;* 91 % r. D. für *Helminthosporium frumentacei,* 93,9 % r. D. für *Gloeosporium tabernemontanae, Phyllosticta cajani;* 95 % r. D. für *Colletotrichum falcatum, C. lindemuthianum, C. graminicolum* (alle Angaben nach CHOWDBURY [1937 und 1936]); 93 % für *Botrytis cinerea* (SNOW 1949); 95 % für *Cladosporium fulvum* (GUBA 1938).

Auffällig ist, daß von den hier untersuchten Arten *Rhizoctonia solani, Thielavia basicola, Ophiobolus graminis,* die als typische Vertreter bodenbewohnender Pilze gelten, offensichtlich etwas höhere Feuchtigkeitsansprüche stellen. Das hohe Feuchtigkeitsbedürfnis von *Rhizoctonia solani* war von umfangreichen in den letzten Jahren im hiesigen Institut durchgeführten Infektionsversuchen bekannt. Die gefundenen Hydraturwerte — untere Grenze für das Myzelwachstum bei 96,5 % r. D.! — überstiegen jedoch die diesbezüglich gehegten Erwartungen, um so mehr, als man sich schwer vorstellen kann, daß der im Boden so weit verbreitete Pilz hier tatsächlich immer Verhältnisse antreffen soll, die seinen hohen Feuchtigkeitsansprüchen genügen.

D. Die Sporenkeimung einiger Getreiderostpilze bei verschiedener relativer Dampfspannung

Die Frage, ob die Uredosporen zur Keimung tropfbar flüssiges Wasser benötigen oder schon in feuchter Luft bei Feuchtigkeitsgraden von 100 % und darunter auskeimen, wird verschieden beantwortet. BEAUVÉRIE (1924), MELHUS und DURELL (1919) vertreten die Ansicht, daß eine wasserdampfgesättigte Atmosphäre nicht ausreicht, um Sporenkeimung bei *Puccinia graminis* bzw. *P. coronata* eintreten zu lassen. Gegenteilige Feststellungen

wurden gemacht von Smith (1926) für *Puccinia sorghi* (Keimung zwischen 100 % und 97,5 % r. D.), Stock (1931) für *Puccinia triticina, P. dispersa, P. coronifera, P. graminis* (Keimung bei 100 % und 99 % r. D.), Hemmi und Abe (1933) für *Puccinia glumarum, P. triticina* und *P. lolii* (Keimung bis nahezu 95 %), Clayton (1942) für *Puccinia coronata, P. graminis tritici, P. graminis avenae* (Keimung bis 99 % r. D.). Bei den von den genannten Autoren durchgeführten Untersuchungen befanden sich die Sporen auf trokkenen Objektträgern. Vergleichsweise wurden von Clayton (1942) Versuchsreihen mit paraffinüberzogenen Objektträgern durchgeführt, wobei sich Unterschiede nicht ergaben. Die Sporen keimten auf Paraffin ebenso wie auf Glas. Die eigenen Untersuchungen erstreckten sich auf Uredosporen der Rostarten *Puccinia triticina, P. dispersa, P. coronifera* und *P. glumarum.* Die Anzucht sämtlicher Roste erfolgte im April/Mai 1951 bei den üblichen Gewächshaustemperaturen unter möglichst gleichmäßigen Bedingungen. Als Substrat wurde nach eingehenden Vorversuchen 7 %ige Leitungswassergelatine ausgewählt, die, wie auf S. 64 angegeben, in sehr dünner Schicht auf die Glasplättchen aufgestrichen und 24 Stunden angetrocknet wurde. Die Uredosporen wurden fünf bis sieben Tage nach dem Sichtbarwerden der Pusteln über einem Uhrglas abgeklopft, durcheinandergemischt und mit einem Pinsel über dem Substrat abgestäubt. Bei den Kontrollen für die Keimfähigkeit der Sporen befanden sich diese auf „frischen" und auf „getrockneten" Leitungswassergelatineausstrichen auf Objektträgern, die in Petrischalenfeuchtkammern eingebracht wurden. Es wurden von jedem Pilz vier Sporenserien für den Feuchtigkeitsbereich 100 % bis 96 % r. D. angelegt und nach 24 Stunden an etwa 200 bis 300 Sporen je Feuchtigkeitsstufe Keimschlauchmessungen durchgeführt, nachdem sich bei den Vorversuchen herausgestellt hatte, daß die Keimschlauchlänge geringeren Schwankungen unterworfen ist als die Keimprozente, die namentlich in den Hygrostaten — weniger in den Feuchtkammerkontrollen — stärker schwankten. Entsprechende Feststellungen wurden von Johnson (1912), Melhus und Durell (1919) bei Untersuchungen über den Einfluß der Temperatur auf die Keimung der Rostsporen gemacht. Bei der von mir gewählten Versuchsanordnung kann sich möglicherweise auch noch ein gewisser Luftmangel nachteilig auf die Auslösung des Keimvorganges ausgewirkt haben. Dafür spricht, daß in den Feuchtkammern (getrocknete Nährbodenausstriche) die Sporen besser keimten als in den Hygrostaten bei 100 % r. D., und auch in den Hygrostaten die Keimprozente höher waren, wenn bei sehr spar-

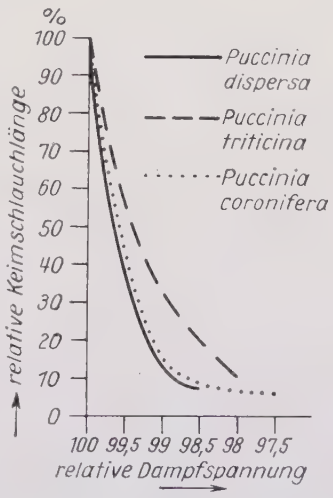


Abb. 10. Keimschlauchlänge der Uredosporen einiger Getreideroste bei verschiedener relativer Dampfspannung nach 24 Std. (Durchschn. Keimschlauchlänge bei 100 % r. D. = 100 %)

samer Füllung der Luftraum zwischen Substrat und Flüssigkeit etwas größer war. Auch aus diesem Grunde wurde bei der Auswertung der Ergebnisse auf die Keimprozente bei den verschiedenen r. D.- Stufen verzichtet.

Mit Ausnahme von *Puccinia glumarum* tritt bei den drei anderen untersuchten Rostarten Sporenkeimung auch noch unterhalb 100 % r. D. ein. Und zwar bei: *Puccinia coronifera* bis 97,5 % r. D., *P. triticina* bis 98 % r. D., *P. dispersa* bis 98,5 % r. D., *Puccinia glumarum* keimte nur auf frischen, indessen nicht auf getrockneten Leitungswassergelatineausstrichen. In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der Keimschlauchmessungen für *Puccinia dispersa, P. coronifera* und *P. triticina* verzeichnet. Der besseren Vergleichsmöglichkeit wegen wurden die gemessenen Werte auch noch in Relativwerte umgerechnet (Keimschlauchlänge bei 100 % r. D. = 100 %) und in Abb. 10 graphisch dargestellt. Wie der Verlauf der Kurven zeigt, unterscheiden sich diese drei Rostarten nur unwesentlich voneinander. Der steile Abfall und Übergang der Kurven aus dem vertikalen in den horizontalen Verlauf, schon bei etwa 99 % r. D., läßt auf eine starke Hemmung der Keimung unterhalb 100 % schließen.

Tabelle 2

Keimschlauchlänge in μ von Rostpilzen bei verschiedener relativer Dampfspannung nach 24 Stunden

	r. D. 100 %	r. D. 99,5 %	r. D. 99 %	r. D. 98,5 %	r. D. 98 %	r. D. 97,5 %
Puccinia dispersa	548	215	68	42		
Puccinia triticina	754	415	243	159	80	
Puccinia coronifera	690	297	97	60	51	41

Zusammenfassung

Untersuchungen über den Einfluß der relativen Dampfspannung auf Sporenkeimung und Myzelwachstum wurden an 18 in vitro kultivierbaren pflanzenparasitischen und an einer insektenpathogenen Art vorgenommen.

Die festgestellten Hydraturgrenzwerte für die Sporenkeimung sind folgende: *Thielavia basicola* 94 % r. D.; *Verticillium alboatrum* 93 % r. D.; *Beauveria bassiana* und *Septoria apii* 92 % r. D.; *Gloeosporium fructigenum, Phomopsis* spec., *Fusarium avenaceum, F. culmorum, F. lini* 91 % r. D.; *F. decemcellulare, F. solani, Helminthosporium papaveris* 90 % r. D.; *Fusarium lateritium, F. lycopersici, F. coeruleum, F. oxysporum* 89 % r. D.; *F. sporotrichioides* 88 % r. D.

Eine Verzögerung des Keimungsbeginns trat bei *Thielavia basicola* und noch stärker bei *Verticillium alboatrum* und *Beauveria bassiana* schon bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit, unterhalb 99 % r. D. in Erscheinung. Bei den anderen Arten erwies sich die Keimzeit innerhalb eines größeren Feuchtigkeitsbereiches unabhängig von der relativen Dampfspannung.

Das Maximum der Wachstumsintensität lag bei allen oben erwähnten Arten und bei *Rhizoctonia solani* und *Ophiobolus graminis* bei 100 % r. D. Bei ihnen war, mit Ausnahme von *Helminthosporium papaveris, Phomopsis* spec. und den Fusarium-Arten *F. avenaceum, sporotrichioides* und *solani,* das Wachstum von 99,5 % r. D. an deutlich verlangsamt. Ein Zurückbleiben hinter dem Maximum der Wachstumsintensität bei 100 % r. D. konnte bei *Helminthosporium papaveris, Fusarium avenaceum, F. sporotrichioides* unterhalb 99 % r. D., bei *Phomopsis* und *F. solani* unterhalb 98 % r. D. festgestellt werden. Von den hier untersuchten Arten zeigten *Rhizoctonia solani* und *Ophiobolus graminis* auch bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit die größte Wachstumshemmung. Myzelentwicklung trat bei *Rhizoctonia solani* bis 96,5 % r. D. und bei *Ophiobolus graminis* bis 94 % r. D. auf. Die Hydraturgrenze für das Myzelwachstum (= absolute Feuchtigkeitsgrenze) lag bei den übrigen Arten um zwei bis vier Prozent tiefer als die Hydraturgrenze für die Sporenkeimung.

Es wurde die Keimung der Uredosporen von *Puccinia glumarum, P. triticina, P. dispersa* und *P. coronifera* bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit untersucht. Mit Ausnahme von *Puccinia glumarum* trat bei diesen Rostarten Sporenkeimung auch unterhalb 100 % r. D. ein, und zwar bei: *P. dispersa* bis 98,5 % r. D., *P. triticina* bis 98 % r. D., *P. coronifera* bis 97,5 % r. D.

Literaturverzeichnis

1. Bavendamm, W. und Reichelt, H.: Die Abhängigkeit des Wachstums holzzersetzender Pilze vom Wassergehalt des Nährsubstrates. Archiv. f. Mikrobiologie **9**, 1938, 486 bis 544.
2. Beauvérie, J.: Sur la germination des urédospores des rouilles du blé. Compt. Rend. Acad. Sci. Paris **179**, 1924, 933. Ref. Rev. Appl. Mycol. **4**, 1925, 154.
3. Burcick, E.: Über die Beziehungen zwischen Hydratur und Wachstum bei Bakterien und Hefen. Archiv f. Mikrobiologie **15**, 1930, 203—235.
4. Chowdbury, S.: A disease of Zea mays caused by *Colletotrichum graminicolum* (Ces.) Wilson. Indian Jour. Agr. Sci. **7**, 1936, 833—845. Ref. Rev. Appl. Mycol. **15**, 1936, 795.
5. — —: Germination of fungal spores in relation to atmospheric humidity. Indian Jour. Agr. Sci. **7**, 1937, 653—657. Ref. Rev. Appl. Mycol. **17**, 1938, 56.
6. Clayton, C. N.: The germination of fungus spores in relation to controlled humidity. Phytopathology, **32**, 1942, 921—943.
7. Galloway, L. D.: The moisture requirements of mould fungi, with special reference to mildew in textiles. Jour. Text. Inst. **26**, 1935, T 123—T 129. Ref. Rev. Appl. Mycol. **14**, 1935, 584.
8. Groom, P. und Panisset, Th.: Studies on *Penicillium chrysogenum* Thom, in relation to temperature and relative humidity of the air. Ann. Appl. Biol. **20**, 1933, 633—660.
9. Guba, E .F.: Tomato leaf mould as influenced by environment. Mass. Agr. Exp. Stat. Bull. **350**, 1938.
10. Heintzeler, I.: Das Wachstum der Schimmelpilze in Abhängigkeit von den Hydraturverhältnissen unter verschiedenen Außenbedingungen. Archiv f. Mikrobiologie **10**, 1939, 92—132.

11. Hemmi, T. und Abe, T.: On the relation of air humidity to germination of urediniospores of some species of *Puccinia* parasitic on cereals. Forsch. Geb. Pflanzenkr. (Tokyo) **2**, 1933, 1—9. Ref. Rev. Appl. Mycol. **13**, 1934, 83.

12. Johnson, E. C.: Cardinal temperatures for the germination of uredospores of cereal rusts. (Abstr.) Phytopathology **2**, 1912, 47.

13. Melhus, J. E. und Durell, L. W.: Studies on the crown rust of oats. Iowa Agr. Exp. Sta. Res. Bull. **49**, 1919, 115.

14. Ploto, O. von: Beiträge zur Kenntnis der Morphologie und Physiologie der Actinomyceten. Archiv f. Mikrobiologie **11**, 1940, 33—72.

15. Smith, M. A.: Infection and spore germination studies with *Puccinia sorghi*. Abstr. Phytopathology **16**, 1926, 69.

16. Snow, D., Crichton, M. H. G. and Wright, N. C.: Mould deterioration of feedingstuffs in relation to humidity of storage. Part I: The growth of mould at low humidities. Ann. Appl. Biol. **31**, 1944, 102—110.

17. Snow, D.: The germination of mould spores at controlled humidities. Ann. Appl. Biol. **36**, 1949, 1—13.

18. Stille, B.: Die Sporenkeimung von *Aspergillus glaucus* in Abhängigkeit von Temperatur und Luftfeuchtigkeit. Archiv f. Mikrobiologie **14**, 1950, 108—112.

19. Stock, F.: Untersuchungen über Keimung und Keimschlauchwachstum der Uredosporen einiger Getreideroste. Phytopath. Zeitschr. **3**, 1931, 231—279.

20. Theden, G.: Untersuchungen über die Feuchtigkeitsansprüche der wichtigsten in Gebäuden auftretenden holzzerstörenden Pilze. Angew. Botanik **23**, 1941, 189—253.

21. Tomkins, R. G.: Studies on the growth of moulds. I. Proc. Roy. Soc. B. **105**, 1930, 375—401.

22. Walter, H.: Plasmaquellung und Wachstum. Zeitschr. f. Botanik **16**, 1924, 353.

23. — —: Die Wassersättigung der Pflanze und ihre Bedeutung für das Pflanzenwachstum. Zeitschr. f. Pflanzenernährung u. Düngung, Teil A, **6**, 1926, 65.

24. — —: Die Hydratur der Pflanze. Jena. G. Fischer, 1931.

Aus dem Biologischen Laboratorium der Dr. R. MAAG AG., Dielsdorf-Zürich (Schweiz)

Die Bekämpfung des Zwetschgenrostes mit Zineb

Von

L. Zobrist und E. Hoffmann

Mit 1 Abbildung

Der Befall der Zwetschgen- und Pflaumenbäume durch den wirtswechselnden Rostpilz *Tranzschelia pruni spinosae* (Pers.) Diet. hat in den letzten zehn Jahren an Intensität zugenommen. Auch Blumer (1953) gelangt zu der gleichen Feststellung.

Bei schwächerem Auftreten verursacht die Krankheit nur unbedeutenden Schaden, der keine besondere Bekämpfungsmaßnahme rechtfertigen würde. Wenn aber die Blätter schon vor der Ernte rostbefallen sind und die Bäume mehr als einen Monat vor der Vegetationsruhe schon völlig entblättert dastehen, dann muß sich dieser vorzeitige Blattverlust auf den Ertrag und die weitere Entwicklung des Baumes in ungünstigem Sinne auswirken.

Als Aecidien-Wirte für diesen wirtswechselnden Rostpilz sind verschiedene Ranunculaceen bekannt, so die wildwachsende, gelbblühende *Anemone ranunculoides* L. und die in den Gärten als Zierpflanze kultivierte *Anemone coronaria* L. Auch der Winterling (*Eranthis hiemalis* [L.] Salisb.) wird als Zwischenwirt genannt. Als Uredo- und Teleutosporen-Wirt kommen Prunus-Arten in Betracht, insbesondere die Zwetschge (*Prunus domestica* L.) und die Pflaume (*Prunus insititia* L.), beide mit ihren verschiedenen Kulturformen. Der Pilz überwintert in den Teleutosporen, und von diesen aus greift im Frühjahr die Infektion wieder auf die Zwischenwirte über.

In verschiedenen von uns seit Jahren kontrollierten Zwetschgenanlagen, die jeden Sommer einen mäßigen bis starken Rostbefall aufwiesen, waren keine der drei genannten Zwischenwirte in der Pflanzung selbst oder in deren unmittelbaren Umgebung vorhanden. Wir möchten deshalb der Ansicht von Blumer (1953) zustimmen, der es für möglich hält, daß der Pilz in seiner Uredoform entweder mit Uredosporen auf den Zweigen oder als Myzel in den Zweigen oder Knospen überwintern kann. Dies würde eine Erklärung für das alljährliche starke Auftreten von *Tranzschelia pruni spinosae* in Gebieten, wo die Zwischenwirte nachweislich fehlen, geben.

Im Verlauf dieser Untersuchungen machten wir folgende Beobachtungen über den Grad der Rostanfälligkeit. Jahr für Jahr stellten wir bei den in unseren Versuchen stehenden Sorten Ruth Gerstetter, Early Laxton, Prinz Englebert und Fellenberg einen sehr starken Befall fest; etwas weniger anfällig war die Sorte Ersinger Frühzwetschge, und nur schwachen Befall notierten wir für die Sorte Bühlers Frühzwetschge.

Die für die Bekämpfung der Schrotschußkrankheit (*Clasterosporium carpophilum* [Lév.] Aderh.) an Steinobst gebräuchliche Schwefelkalkbrühe wurde zu verschiedenen Spritzdaten, in steigenden Konzentrationen und mit verschiedenen Zusätzen: Eisenvitriol, Netzmittel, Kupferkarbonat, auch gegen den Zwetschgenrost geprüft. Wenn auch in einzelnen Jahren mit der Schwefelkalkbrühe ein gewisser Erfolg (vgl. Tabelle 1, Waisenhof), wie dies auch von BLUMER (1953) festgestellt wurde, in Form einer Verzögerung des massiven Befalles zu verzeichnen war, so stand dieser doch in keinem Verhältnis zum Aufwand. Mit Netzschwefel erzielten wir die gleichen unbefriedigenden Resultate wie mit Schwefelkalkbrühe.

Abb. 1. Rechts: Unbehandelter Baum. Links: Zweimal mit Zineb behandelte Bäume in voller Belaubung (vgl. Tabelle 1) *Aufnahme: Edelobst-Anlage Bubendorf, 12. 9. 52*

Die überraschenden Erfolge in der Bekämpfung der Rostkrankheit an verschiedenen Zierpflanzen, wie z. B. von *Uromyces caryophyllinus* (Schr.) Wint. an Kulturformen von Nelken oder *Puccinia antirrhini* Diet. et Holw. an verschiedenen Varietäten von Löwenmaul, sowie *Puccinia chrysanthemi* Roze an den Zuchtformen der Gewächshaus- und Freiland-Chrysanthemen, mit einem Zineb-Präparat (Dithane Z 78), enthaltend 65 % Zink-ethylen-bis-dithiocarbamat, wiesen uns den zu beschreitenden Weg.

In früheren Versuchen (ZOBRIST und HOFFMANN, 1952) haben wir festgestellt (vgl. Tabelle 1, Dielsdorf 1951), daß im Zeitpunkt der zweiten Nachblütespritzung, wie sie für die Bekämpfung von Schrotschuß ausgeführt wird, die spezifische Wirkung von Zineb noch verfrüht ist, da dann immer noch ein mittelstarker Befall, besonders an den Triebenden, eintritt. Aus diesem Versuch kann zudem gefolgert werden, daß die Vorblüte- und auch die erste Nachblütespritzung mit den preislich günstigeren Schwefelpräparaten ausgeführt werden können, da in diesen Entwicklungsstadien noch wenig Blätter vorhanden sind. Erst die Zineb-Behandlung im Zeitpunkt der dritten Schrot-

Tabelle 1 Ergebnisse der Bekämpfungsversuche gegen Zwetschgenrost in den Jahren 1951/52

Versuchsort	Anzahl Bäume	1. Nachblütespr.		2. Nachblütespr.		3. Nachblütespr.		4. Nachblütespr.		Dat. der Kontrolle	Taxierung
		Datum	Präparat	Datum	Präparat	Datum	Präparat	Datum	Präparat		
Dielsdorf 1951											
Spritzfolge A	8	9. 5.	Zineb	29. 5.	Zineb	18. 6.	Zineb		—	6. 10.	sehr schwacher Befall nur an Neuzuwachs
„ B	8	9. 5.	Zineb	29. 5.	Zineb		—		—	6. 10.	mittelstarker Befall, bes. an Neuzuwachs
unbehandelt	8		—		—		—		—	6. 10.	vollkommen entlaubt
Bubendorf 1952											
Spritzfolge C	4		—	29. 5.	Zineb		—		—	12. 9.	mittelstarker Befall, bes. an Neuzuwachs
„ D	200		—	29. 5.	Zineb	23. 6.	Zineb		—	12. 9.	kein bis sehr schwacher Befall
unbehandelt	6		—		—		—		—	12. 9.	vollkommen entlaubt
Waisenhof 1952											
Spritzfolge E	102	9. 5.	NS	24. 5.	NS	9. 6.	SK	18. 7.	Zineb	2. 10.	kein Befall
„ F	9	9. 5.	NS	24. 5.	NS	9. 6.	SK		—	2. 10.	fast vollständige Entlaubung mit Beginn anfangs September
unbehandelt	10		—				—		—	2. 10.	vollk. Entlaubung mit Beginn ab Mitte August

Zineb (Dithane Z 78), Handelspräparat, Anwendung 0,2 %.
NS = Netzschwefel: 70 % S, Anwendung 0,75 resp. 0,5 %.
SK = Schwefelkalkbrühe: 32 ° Bé, Anwendung 1 % mit Netzmittel.

schußspritzung „Mitte Juni" bringt den vollen Erfolg gegen den Zwetschgenrost, wie dies auch durch Untersuchungen von Blumer (1953) und durch die Beobachtungen in der Edelobstanlage Bubendorf (Tabelle 1 und Abb. 1) bestätigt wird.

Mit unserem Versuch (Waisenhof 1952) wollten wir einerseits die spezifische Wirkung von Zineb, andererseits die Wirkung einer noch später ausgeführten Spritzung (Mitte Juli) gegen Rost klären. Auch diese späte, mit der Bekämpfung des Pflaumenwicklers kombinierte Behandlung brachte einen vollen Erfolg (Tabelle 1) und zeigte zugleich, daß für die vorhergehenden Behandlungen ohne weiteres die „befallsverzögernden" Schwefelpräparate verwendet werden können. Wegen der Beschmutzung der Früchte ist diese erst im Juli ausgeführte Behandlung bei fruchttragenden Bäumen nicht zu empfehlen, dagegen bei Jungbäumen mit starkem Neuzuwachs.

Zwischen der Spritzfolge F (Behandlung mit Netzschwefel) und unbehandelt stellten wir nur einen Unterschied im Beginn des Befalles fest. Während bei unbehandelt das Fallen der Blätter schon vor der Ernte einsetzte und dadurch die Früchte eine gewissse Notreife zeigten, setzte der Blattfall bei Behandlung mit Schwefelpräparaten erst zu Beginn der Ernte ein. Im Zeitpunkt der Kontrolle zeigte sich kein Unterschied, die beiden Baumreihen waren vollständig entlaubt. Im Gegensatz zu Yarwood (1951) stellten auch wir, wie Blumer, den Beginn des Befalles nicht an der Spitze und an der Peripherie der Krone fest, sondern an den unteren und inneren Partien des Baumes.

Zusammenfassung

Der Zwetschgenrost (*Tranzschelia pruni spinosae*) ist mit Schwefelpräparaten nicht mit Erfolg zu bekämpfen. Z i n e b wirkt dagegen spezifisch. Eine einzige Spritzung um Mitte Juni mit 0,2 % Zineb, enthaltend 65 % Zinkethylen-bis-dithiocarbamat, genügt, um fruchttragenden Bäumen mit ohnehin schwachem Neuzuwachs das volle Blattwerk bis zum ersten Frost zu erhalten. Bei Jungbäumen mit starkem Neutrieb ist eine zweite Spritzung um Mitte Juli angezeigt.

Summary

Plumrust cannot be controlled by sulfur products. Zineb has specific action. One treatment alone about the middle of June with 0,2 % Zineb containing 65 % zinc ethylene bis dithiocarbamate is sufficient to protect the foliage of fruitbearing trees, which do not grow vigorously, till the first autumn frosts. It is only necessary to carry out a second treatment about the middle of July on vigorously growing young trees.

Literaturverzeichnis

Blumer, S., 1953: Die Bekämpfung des Zwetschgenrostes. Schw. Z. f. Obst- u. Weinbau **62**, 5—9.

Yarwood, C. E., 1951: Rust on plums. Phytopathology **41**, 194—195.

Zobrist, L. und Hoffmann, E., 1952: Der Zwetschgenrost und seine Bekämpfung. Schw. Z. f. Obst- u. Weinbau **61**, 169—173.

Biologische Bundesanstalt, Institut für forstliche Mykologie und Holzschutz, Hann. Münden

Die Cytospora-Krankheit der Pappel und die Bedingungen für ihr Auftreten[1])

Von

A. Schmidle

Mit 5 Abbildungen

Der verstärkte Pappelanbau und das damit einhergehende erhöhte Auftreten von Krankheiten ließ es für notwendig erscheinen, dieser Baumart besondere Aufmerksamkeit zuzuwenden.

Im folgenden soll über einen der verbreitetsten Rindenpilze in Pappelanlagen, *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fr., und dessen pathologische Bedeutung, die noch sehr umstritten ist, berichtet werden.

Cytospora chrysosperma (Pers.) Fr. ist, wie schon Diedicke (1912) und Grove (1923) u. a. vermuteten, und Münch (1909), Povah (1921) und Schreiner (1931) bewiesen, die Nebenfruchtform des Ascomyceten *Valsa sordida* Nitschke. Meist tritt der Pilz jedoch nur in seiner Nebenfruchtform auf. An dem von uns untersuchten Material konnte die Hauptfruchtform bisher nicht gefunden werden. Auch Müller-Stoll und Hartmann (1950) berichteten über ihr vergebliches Bemühen. Der Pilz wird nicht nur aus Amerika und Europa gemeldet, sondern von Togashi (1924) auch aus Japan, von Petrak und Esfandieri (1941) aus dem Iran und durch Evans (1922) aus Südafrika.

Die Untersuchungen über die Bedingungen, unter denen ein Befall durch *Cytospora* zustande kommt, sind zahlreich. Als erster berichtete Münch (1909) über von *Cytospora chrysosperma* befallene junge Pappelpflanzen und glaubte, daß an dem primären Parasitismus des Pilzes nicht zu zweifeln sei. Long (1918) spricht von einem ernsten (serious) Parasiten auf geschwächten Pflanzen. Weitere Forscher wie Hubert (1920), Hartley und Hahn (1920), Povah (1921), Moss (1922), Day (1924), Sanford (1929, 1931), Dufrenoy (1930), Schreiner (1931, 1931 a), Richter (1933), Liese (1936), Christensen (1940), Verona und Florenzano (1946), Florenzano (1949) und Ciferri (1951) berichteten über den Pilz und bezeichneten *Cytospora chrysosperma* teilweise als Saprophyten, teils als Schwäche- oder Wundparasiten.

1) Teilergebnis eines ERP-Forschungsauftrages. Herrn Professor Dr. Zycha bin ich für die Anregung zu dieser Arbeit sehr zu Dank verbunden. Für die Förderung der Dokumentation stellte die Deutsche Forschungsgemeinschaft eine Kamera mit Zubehör zur Verfügung.

Aus Deutschland berichten neuerdings DICK (1949), wie auch MÜLLER-STOLL und HARTMANN (1950) von einem epidemischen Umsichgreifen einer Krankheit an Pappelmutterstöcken, sowie an Zweigen und Stämmen von Pappelpflanzen, die sie auf *Valsa sordida*[2]) als den primär schädigenden Organismus zurückführen und sehen den Pilz als „fakultativen Parasiten" an. MÜLLER-STOLL und HARTMANN bezeichnen das Auftreten dieser Krankheit als überraschend und führen mit Recht an, daß unsere forstpathologische Literatur im Gegensatz zur amerikanischen kaum etwas über die Pathogenität dieses Pilzes zu berichten weiß. Es erschien daher notwendig, weitere Studien über die Bedingungen, unter denen der Pilz auftritt, zu machen und durch Beobachtungen und Infektionsversuche festzustellen, ob *Cytospora chrysosperma* besondere Bedeutung als Baumschädling in Deutschland hat.

1. Krankheitsbild und Ursache

Zeigen sich auf der Rinde von Pappelzweigen oder Ästen bräunliche Verfärbungen, die später dunkelbraun bis schwarz werden, so können das die ersten, wenn auch nicht immer deutlich erkennbaren Anzeichen des *Cytospora*-Befalls sein. Oft ist aber nur ein etwas dunkleres Grün der Rinde festzustellen. Wird das Periderm abgenommen, so kann die darunter befindliche Schicht schon schwarz sein. An dünneren Zweigen zeichnet sich der Pilz durch eine besonders starke Längsausbreitung in der Rinde aus, so daß absterbende, braungefärbte Rindenstreifen zwischen grünen, gesunden liegen. An solchen Zweigen wird oft eine Ringelung beobachtet, wobei der darüber befindliche Teil abstirbt und verdorrt. Auf stärkeren Ästen finden wir um die Infektionsstelle kleine, braune Einsenkungen, die nach und nach größer werden und in der Längsrichtung stärker ausgedehnt sind als in der Breite. An den Randzonen solcher Befallsstellen zeichnen sich vielfach Überwallungswülste ab. Solche Stellen werden, wenn die Pflanze gut wächst, meist in demselben Jahr noch überwallt, während an dünnen Zweigen keine auffällige Abwehrreaktion der Pflanze zu beobachten ist. Im weiteren Befallsstadium bilden sich die schwarzen Pykniden des Pilzes in der Rinde (Abb. 1); sie sind oberflächlich zunächst als konvexe Vorsprünge zu sehen. Später durchbrechen sie das Periderm. Im Zentrum haben sie eine grauschwarze Scheibe, die von einer Pore durchbrochen ist. Bei feuchtem Wetter treten aus diesen Pykniden durch die Poren, je nach Feuchtigkeitsgehalt der Luft, gelb bis orangerot gefärbte Sporenranken von verschiedener Länge hervor (Abb. 2, 3). Die kleinen, 4 ... 5 × 0,8 ... 1,1 μ großen, hyalinen, würstchenförmigen Pyknosporen werden durch Schleim zusammengehalten. Sie entstehen in den mehrkammerigen Pykniden an farblosen, fadenförmigen 10 ... 18 μ langen Sporenträgern.

Die befallene Rinde trocknet mit der Zeit aus und zerfasert. Das unter der Befallsstelle befindliche Holz kann anfangs von rötlichbraunen Streifen durchzogen sein; später wird es braun bis schwarz. Auf dem Holz sind des

[2]) Der Pilz lag nur in seiner Nebenfruchtform *Cytospora chrysosperma* vor.

Abb. 1. *Cytospora*-Pykniden, die Rinde durchbrechend *(Bild BBA-MH 8840)*

Abb. 2. *Cytospora*-Pykniden mit hervorgetretenen kurzen Sporenranken *(Bild BBA-MH 8801)*

Abb. 3. *Cytospora*-Pykniden mit längeren Sporenranken *(Bild BBA-MH 9018, Dr. Schulz)*

öfteren dunkle, konzentrische Ringe, besonders an den Ansatzstellen der Zweige, zu beobachten. Das durch *Cytospora chrysosperma* hervorgerufene Krankheitsbild zeigt alle Merkmale eines Rindenbrandes, wie es von Appel und Westerdijk (1919) beschrieben wurde. In der englisch-amerikanischen Literatur werden solche Schäden, auch die Anfangsstadien des *Cytospora*-Befalls, als canker („Krebs") bezeichnet und dementsprechend wird von *Cytospora*-canker bzw. *Valsa*-canker gesprochen. Auch in Deutschland hat der Ausdruck „Krebs" für durch *Cytospora chrysosperma* hervorgerufene Rindenschäden teilweise Eingang gefunden, so daß Dick (1949), Müller-Stoll und Hartmann (1950), Regler (1951) und Schwerdtfeger (1951) von *Cytospora*- bzw. *Valsa*-Krebs sprechen. Es dürfte aber zweckmäßig sein, den in der deutschen forstpathologischen Literatur gebräuchlichen Unterschied zwischen „Rindenbrand" und „Baumkrebs" weiterhin beizubehalten und den Ausdruck „Krebs" nicht auf einjährige Rindenschäden zu erweitern, sondern wie Appel und Westerdijk (1919) nur bei chronischen Wundstellen von Krebs zu sprechen. Koning (1938) und neuerdings besonders Zycha (1952) haben auf diese Unterschiede hingewiesen.

Ob *Cytospora* wirklich einen typischen Krebs hervorrufen kann, muß bezweifelt werden. LONG (1918) spricht jedoch von einer Krebsbildung, die mehrere Jahre dauerte. Nach unseren Erfahrungen findet man zwar den Pilz auf Krebsstellen meist vor, doch konnten fast immer andere Ursachen primär für diese Schäden verantwortlich gemacht werden. Auch KONING (1938) stellt fest, daß *Cytospora* auf Krebswunden gefunden wird, jedoch nie die direkte Ursache dieses Schadens ist.

Nach unseren bisherigen Beobachtungen konnte bei Auftreten von *Cytospora* fast immer eine erhebliche Schwächung der befallenen Pflanzenteile nachgewiesen werden. Da der Pilz aber von verschiedenen Autoren als echter Parasit angesehen wird, wurde versucht, durch künstliche Infektionen hierüber, sowie über eine mögliche Krebsbildung Aufklärung zu erhalten.

2. Infektionsversuche

Für die künstlichen Infektionen fanden Sporen oder Myzel von zwölf Stämmen, die in Reinkultur auf Malzextraktagar gehalten wurden, sowie Sporen aus natürlichem Befall Verwendung. Nach Herstellung einer Sporenaufschwemmung wurden einige Tropfen davon mit einer Rekordspritze in künstliche Wunden — kleine Risse oder kleine Schnitte in der Rinde von 0,5 . . . 1 cm Länge, die bis in den Holzkörper reichten — unmittelbar nach der Verletzung gegeben. Bei der Verwendung von Myzel als Infektionsmaterial wurden kleine Agarstückchen, die vom Myzel überzogen waren, aus der Randzone der Agarplatten entnommen und in die Wunden eingelegt. Bei einem Teil der Pflanzen erfolgte nach dem Beimpfen die Anlegung eines feuchten Verbandes (wassergetränkte Watte mit Ölpapier) um die Wundstellen. Der Verband ist 8 bis 14 Tage später wieder entfernt worden. Bei dem anderen Teil der Pflanzen blieben die Infektionsstellen unverbunden. Die Kontrollen blieben unbeimpft, wurden sonst aber gleich behandelt.

Unterschiede in den Infektionsergebnissen, ob mit oder ohne feuchten Verband, waren nicht festzustellen, doch konnte im Laufe der Sommermonate beobachtet werden, daß die feuchtgehaltenen Infektionsstellen besonders schnell überwallten.

a) Infektionsversuche an gut wachsenden Pappeln im Freiland

Die Infektionen erfolgten an Ästen, Zweigen und Stämmen von ein bis zehn Jahren alten Pappeln. Für die Versuche stellten die niedersächsischen Forstämter Bovenden, Escherode, Herberhausen, Kattenbühl und das Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung in Schmalenbeck/Hamburg[3]) Pappelpflanzungen zur Verfügung. Um festzustellen, ob während der Wintermonate eine zeitliche Krankheitsdisposition vorhanden ist, wurde versucht, so weit es die klimatischen Bedingungen zuließen, jeden Monat Infektionen durchzuführen. Meist wurden Sporeninfektionen vorgenommen, zum ge-

[3]) Allen genannten Dienststellen sei auch hier für ihr Entgegenkommen herzlich gedankt.

ringeren Teil auch Myzelinfektionen. Das verwendete Pflanzenmaterial bestand aus über 50 Pappelklonen und -sorten.

Die Beobachtungen erfolgten, soweit es sich aus räumlichen Gründen ermöglichen ließ[4]), in etwa vierwöchigen Abständen. Trat Pyknidenbildung ein oder starb der Zweig ab und ließ sich daraus *Cytospora* reisolieren, so werden diese Infektionen als „positiv" bezeichnet. Da die „positiv" ausgefallenen Infektionen gering sind, konnte eine Auswertung in bezug auf Sorten- und Klonanfälligkeit nicht erfolgen, so daß es sich auch erübrigt, die verwendeten Sorten aufzuführen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Wie ersichtlich, sind von den 602 vorgenommenen Sporen- und Myzelinfektionen bis zum Abschluß der Versuche im Juni 1953 nur 24 „positiv" ausgefallen. Die Pflanzen überwallten die Verletzungen während der Sommermonate sehr schnell; die Wunden der Herbstinfektionen schlossen sich im späten Frühjahr 1953. Die Kontrollen, die nur verletzt, jedoch nicht be-

Tabelle 1

Zusammenfassung der Ergebnisse der *Cytospora*-Infektionen an gut wachsenden Pflanzen im Freiland

Datum der Infektion	Standort der Pappeln	Infektionen mit				Kontrollen
		Sporen	davon „positiv"	Myzel	davon „positiv"	
1. II. 52	FA. Escherode	25	1	16	—	7
15. III. 52	FA. Escherode	25	3	15	—	10
17. IV. 52	FA. Herberhausen	56	2	17	—	17
29. IV. 52	Institut für Forstpflanzenzüchtung, Schmalenbeck	98	7	—	—	25
20. V. 52	FA. Escherode	22	—	—	—	9
13. VI. 52	FA. Herberhausen	46	2	—	—	14
12. VII. 52	FA. Bovenden	58	—	—	—	16
11. IX. 52	FA. Escherode	40	1	—	—	19
17. X. 52	FA. Bovenden	62	3	—	—	16
23. X. 52	Institut für Forstpflanzenzüchtung, Schmalenbeck	47	1	20	—	14
26. II. 53	FA. Escherode	40	3	15	1	15
	insgesamt	519	23	83	1	162

[4]) Herrn Dr. Grehn, Schmalenbeck, bin ich für die zwischenzeitlich vorgenommenen Beobachtungen zu Dank verbunden.

impft wurden, blieben alle ohne Pykniden. Die Myzelinfektionen zeigen gegenüber den Sporeninfektionen keine unterschiedlichen Ergebnisse. Auch hinsichtlich einer zeitlichen Krankheitsdisposition während der Wintermonate (SCHREINER, 1931, MÜLLER-STOLL und HARTMANN 1950) konnten keine Unterschiede gefunden werden, ganz im Gegensatz zu den mit *Dothichiza populea* Sacc. et Briard vorgenommenen Infektionsversuchen, die unter denselben Bedingungen und an den gleichen Sorten und Klonen, teilweise sogar an denselben Pflanzen von mir durchgeführt wurden. (Über die Infektionsversuche mit *Dothichiza* wird nach Abschluß der Versuche in einer späteren Arbeit berichtet werden.)

Die im folgenden beschriebenen Versuche sollen die notwendigen Vergleiche mit den Infektionen an gut wachsenden Pflanzen geben und zeigen, daß die verwendeten *Cytospora*-Stämme die nötige Virulenz besaßen, geschwächte Pflanzenteile zum Absterben zu bringen.

b) Infektionen an geköpften Pflanzen

Einjährige Pflanzen von *Populus deltoides*, Harsefeld Nr. 4, wurden auf Versuchsgelände im Botanischen Garten[3]) in Hann. Münden, im Kamp des Forstamtes Kattenbühl, sowie zu je vier Stück in Mitscherlich-Gefäßen eingepflanzt und vor dem Austrieb im Frühjahr 1952 oben abgeschnitten, so daß ein Stumpf von etwa 30 cm stehen blieb. An drei Stellen, oben, in der Mitte und unten erfolgte an diesem Stumpf in der bereits geschilderten Weise eine Infektion mit *Cytospora*sporen, kurz vor oder während des Austriebes. Feuchte Verbände wurden nicht angelegt.

Diejenigen Pflanzen, die oben an dem Stumpf ausgetrieben hatten, zeigten nach einem Jahr noch keinen Befall von *Cytospora*. Bei den Pflanzen, die in der Mitte austrieben, waren bereits nach sechs bis acht Wochen *Cytospora*-Pykniden bis zu diesem Austrieb vorhanden. An dieser Stelle wurde dann ein Kalluswulst gebildet (Abb. 4), der auf der dem Trieb abgewandten Seite des Stumpfes sich etwas nach unten bog. Geht der Austrieb unten vonstatten, also in oder gerade über der Erde, so wird der ganze Stumpf bis zu diesem Austrieb von *Cytospora* befallen (Abb. 5). Einige der Kontrollen zeigten nach etwa zehn bis zwölf Wochen ebenfalls *Cytospora*-Pykniden, jedoch immer später als die beimpften Pflanzen. Dieser Befall muß durch natürliche Infektion zustande gekommen sein. Weitere Einzelheiten sind aus Tabelle 2 zu entnehmen.

MÜLLER-STOLL und HARTMANN (1950) haben festgestellt, daß des öfteren der Pilz im Holz weiter vordringt als äußerlich zu erkennen ist und haben noch aus weiß aussehendem Holz durch Abimpfungen Myzel erhalten. Es wurden deshalb einige der Versuchspflanzen aufgeschnitten, um zu prüfen, ob das äußere Befallsbild von dem inneren abweicht. Bei den im Freiland gut gewachsenen Pflanzen war in der Höhe des ersten Austriebes am Stumpf das Holz in einer Länge von etwa 1 . . 1,5 cm und im ganzen Durchmesser braun verfärbt und setzte sich ziemlich scharf von dem darunter befindlichen weißen Holz ab. Daraufhin wurden sowohl aus dem braun

Abb. 4. *Cytospora*-Befall mit Anfangsstadien von Pykniden bis zum ersten Austrieb in der Mitte des Stumpfes
(Bild BBA-MH 7622)

Abb. 5. Austrieb unter der Erde. Stumpf bis unten mit *Cytospora*-Konidienranken besetzt
(Bild BBA-MH 7522, Dr. Schulz)

verfärbten als auch aus dem weiß aussehenden Holzteil unter sterilen Bedingungen kleine Holzstückchen entnommen und auf Malzextraktagar gesetzt. Nur aus den Holzstückchen der verfärbten Zonen wuchs nach wenigen Tagen Pilzmyzel, das später nach Pyknidenbildung sich als *Cytospora chrysosperma* erwies. Beim Aufschneiden der in den Mitscherlich-Gefäßen gewachsenen Pflanzen zeigte es sich, daß die braun verfärbten Zonen bis zu 3 cm unter den ersten Austrieb, einzelne schmale braune Streifen sich sogar bis in den Bereich der Wurzel fortsetzten. Auch hier konnte nur aus der braun verfärbten Zone bzw. aus den braunen Streifen Myzel gewonnen werden.

Die Versuche zeigen, daß der Befall durch *Cytospora* immer nur so weit geht, wie der betreffende Pflanzenteil dem Saftstrom nicht mehr angeschlossen ist. Die im Botanischen Garten und im Kamp Kattenbühl stehenden Pflanzen hatten während des Jahres 1952 und bis zum Juni 1953 normalen Zuwachs. Eine weitere Ausbreitung des *Cytospora*-Befalls während der Wintermonate wurde nicht beobachtet. Von den in den Mitscherlich-

Tabelle 2
Infektionsergebnisse an geköpften Pflanzen

			Ort des Versuchs			insgesamt
			Botanischer Garten	Kamp Kattenbühl	Mitscherlich-Gefäße	
Anzahl der infizierten Pflanzen			39	24	37	100
insgesamt befallene Pflanzen			29	17	26	72
ist der Austrieb der Pflanzen	oben, dann	befallen	—	—	—	—
		nicht befallen	9	6	10	25
	in der Mitte, dann	befallen	13	7	9	29
		nicht befallen	—	1	—	1
	unten, dann	befallen	16	10	13	39
		nicht befallen	1	—	1	2
ganze Pflanze getötet			—	—	4	4
nicht beimpfte Kontrollen		Anzahl	5	4	7	16
		davon befallen	2	1	3	6

Gefäßen befindlichen 37 Pflanzen gingen über den Winter vier ein und wiesen im Frühjahr 1953 starken *Cytospora*-Befall auf. Es ist jedoch zu beachten, daß diese Pflanzen keinen besonders starken Zuwachs hatten und sichtlich unter Nahrungsmangel litten.

c) Infektionen an künstlich geschwächten Pflanzen oder Pflanzenteilen

Durch mehr oder weniger tiefe Einschnitte in die Zweige oder in jüngere ein- bis zweijährige Pflanzen oder durch Abbinden mit Draht zu verschiedenen Zeitpunkten (s. Tabelle 3) wurde versucht, den Saftstrom der Pflanzenteile einzuschränken. Dann wurde in der eben beschriebenen Art und Weise der künstlich geschwächte Teil infiziert, ohne daß ein feuchter Verband angelegt wurde. Schon nach 14 Tagen zeigten auf diese Weise behandelte Äste und Pflanzen mehr oder weniger große Verfärbungen um die Infektionsstellen und nach etwa fünf bis sieben Wochen waren sie weitgehend von *Cytospora*-Pykniden übersät. Der Befall ging bis zum Einschnitt, unter Umständen konnte er noch ein Stück darüber hinaus bis zum nächstfolgenden Austrieb weitergehen. Die nicht künstlich infizierten Kontrollen blieben längere Zeit unbefallen; nach acht bis zehn Wochen zeigten sich aber auch auf diesen Zweigen *Cytospora*-Pykniden (s. Tabelle 3). Dieser

Tabelle 3
Infektionsergebnisse an künstlich geschwächten Pflanzen und Pflanzenteilen

Infektionszeit	Ort	Zahl der Infektionen	„positive" Infektionen	Kontrollen	befallene Kontrollen
1. II. 52	FA. Escherode	14	14	3	2
17. IV. 52	FA. Herberhausen	12	10	3	1
29. IV. 52	Institut für Forstpflanzenzüchtung, Schmalenbeck*)	31	26	4	2
13. VI. 52	FA. Herberhausen	13	9	3	1
4. VII. 52	FA. Escherode	12	8	4	3
11. IX. 52	FA. Escherode	12	10	3	1
	insgesamt	94	77	20	10

*) Die Infektionsergebnisse konnten erst im Oktober 1952 endgültig festgestellt werden.

Befall muß, wie in den früher erwähnten Fällen, durch natürliche Infektion zustande gekommen sein.

Erfolgte nur ein Rindenschnitt rings um den Zweig, so verfärbten sich die Infektionsstellen zwar leicht braun, doch wurden sie, ebenso wie der Rindenschnitt, so schnell überwallt, daß es nicht zu einem Absterben der Zweige kam.

3. Besprechung der Ergebnisse

Wie aus den Versuchen ersichtlich, ist es nicht gelungen, an lebenden und im Freiland gut wachsenden Pflanzen ins Gewicht fallende *Cytospora*-Infektionen zu erzielen. Darf daraus der Schluß gezogen werden, *Cytospora chrysosperma* komme keinerlei pathogene und parasitäre Bedeutung zu? Die negativ ausgefallenen Infektionsversuche sind natürlich noch kein Beweis dafür, daß *Cytospora* kein Parasit ist. Es könnte ja sein, daß trotz der zahlreichen Infektionen die notwendigen Voraussetzungen für ein Eindringen des Pilzes in die Rinde, gleich welcher Art, nicht gegeben waren oder die verwendeten *Cytospora*-Stämme nicht die nötige Virulenz besaßen. Um die angeschnittene Frage zu beantworten, wurden die unter 2 b und c angeführten Versuche gemacht. Sie zeigen, daß ein Eindringen des Pilzes unter den verwendeten Infektionsmethoden ohne weiteres gegeben war, während der schnelle Befall der geköpften und künstlich geschwächten Pflanzen und Pflanzenteile darauf hinweist, daß die verwendeten Stämme ausreichende Virulenz besaßen. Weiter geht aus diesen Versuchen hervor, daß der Pilz immer nur so weit in der Pflanze vordringen kann, wie der be-

fallene Pflanzenteil dem Saftstrom nicht mehr angeschlossen ist. Ein weiteres Vordringen ist dem Pilz nicht möglich, es sei denn, daß die Pflanzen, wie in den Mitscherlich-Gefäßen, nicht unter besonders guten Bedingungen gehalten werden und nur verhältnismäßig schwachen Zuwachs haben; doch sind dem Pilz auch hier Grenzen gesetzt.

An künstlich geschwächten Pflanzen bzw. Pflanzenteilen ist es dem Pilz aber ohne weiteres möglich, weiter vorzudringen und den betreffenden Pflanzenteil in kurzer Zeit zu befallen. Bei natürlich geschwächten oder absterbenden Pflanzen und Pflanzenteilen ist das gleiche der Fall, wie es oft bei solchen Sorten (z. B. *P. robusta*) zu beobachten ist, bei denen die unteren Äste vertrocknen und die dann sofort von dem Pilz befallen werden. Von hier aus kann er, bei Schwächezuständen der Pflanzen, weiter in den Stamm vordringen.

Die vorliegenden Ergebnisse werden durch einen Versuch, den MÜLLER (1953) durchführte, gut ergänzt. Zweijährige Harffer-Pappeln wurden, nachdem sie im Frühjahr 1952 voll ausgetrieben hatten, aus dem Einschlag entnommen und verschiedener Behandlung ausgesetzt. Die Pflanzen, welche nach der Herausnahme aus dem Einschlag sofort wieder eingepflanzt wurden, zeigten bei der von mir Ende Juli 1952 durchgeführten Untersuchung nur auf wenigen Seitenzweigen *Cytospora*-Befall. Die anderen, welche teilweise bis zu vier Tagen in der Sonne gelegen hatten, wiesen mehr oder weniger starken *Cytospora*-Befall auf.

Es ist wichtig, nach diesen Ergebnissen noch einen Blick auf die vorhandene Literatur zu werfen und zu prüfen, unter welchen Bedingungen in den jeweiligen Fällen ein *Cytospora*-Befall zustande kam. LONG (1918) bezeichnet *Cytospora chrysosperma* ausdrücklich als einen ernsten Parasiten auf Pappeln, die in ungünstiger Umgebung wuchsen und unter Wassermangel litten, sich also in einem Schwächezustand befanden. HUBERT (1920) berichtet über das Auftreten von *Cytospora chrysosperma* auf Pappeln nach den trockenen Sommern von 1917, 1918 und 1919. Seine Impfexperimente zeigen, daß weniger kräftige Pflanzen leichter der Krankheit unterliegen, während die kräftigsten Pflanzen nicht infiziert werden oder nur leichte Beschädigungen zeigen. POVAH (1921) berichtet von *Cytospora*-Schäden an Pappeln, die unter Bodenfeuer gelitten hatten. Er sieht *Cytospora* als schwachen Parasiten an, der den Wirt nur in geschwächtem Zustand töten kann. Ausgedehnte Untersuchungen stellte SCHREINER (1931) mit *Cytospora chrysosperma* und *Cytospora nivea* an. Seine Versuche, einen Teil einjähriger, mit *Cytospora* infizierter *Populus eugenei*, die auf schlechtem Boden gewachsen waren, auf gute Gartenerde zu verpflanzen, die dann nach zwei Jahren noch lebten, während die nicht verpflanzten Bäume innerhalb dieser Zeit starben, zeigen deutlich, daß der Pilz nur geschwächten Pflanzen gefährlich werden kann. Am stärksten bezweifelt CHRISTENSEN (1940) den wirklichen Parasitismus von *Cytospora chrysosperma*. Er läßt die Frage offen, ob die Bäume, die anscheinend von *Cytospora* befallen werden, auch dann weiterleben würden, wenn der Pilz nicht vorhanden wäre und ist der Meinung, daß viele Zier-

pappeln in den USA deshalb eingingen, weil sie den klimatischen Bedingungen nicht angepaßt waren.

Müller-Stoll und Hartmann (1950) sehen *Cytospora chrysosperma* zwar als primären Parasiten an, räumen aber ein, daß seine parasitische Ausbreitung durch physiologische Schwächezustände des Wirtsorganismus wesentlich begünstigt wird bzw. „daß erst besondere Bedingungen erfüllt sein müssen, damit der Pilz eine gefährliche Virulenz entwickeln kann" (S. 464). Für ihre, im Gegensatz zu unseren Infektionsversuchen positiv ausgefallenen Ergebnisse, scheinen, wie von ihnen auch betont wird, die „Dürreschädigungen der Bäume durch die langandauernde Hitze und Trockenheit im Sommer 1947 für die erhöhte Anfälligkeit verantwortlich" zu sein (S. 469). Auch Münch (1909, S. 154) schreibt *Cytospora chrysosperma* primären Parasitismus zu, betont aber gleichzeitig, daß ein Baum nur dann von dem Pilz ergriffen werden kann, wenn sein Wassergehalt so weit gesunken ist, daß ein Empfänglichkeitszustand vorliegt.

Aus den durchgeführten eigenen Versuchen und aus den erwähnten Arbeiten ist zu ersehen, daß in fast allen Fällen eine Schwächung der Pflanzen vorhergegangen ist, ja, daß diese sogar unumgänglich notwendig ist, um einen Befall durch *Cytospora* zu erhalten. Wenn aber bestimmte Dispositionen, seien es Wassermangel oder andere Umstände, gegeben sein müssen, um positive Infektionen mit *Cytospora* zu erhalten, so kann die angeschnittene Frage, ob dem Pilz eine parasitäre Bedeutung zukommt, nicht bejaht werden. Es ist aber notwendig, sich über den Begriff „Parasitismus" klar zu sein.

Eine ausführliche und auch heute noch gültige Definition (Braun und Riehm, 1950) hat Münch (1929) gegeben. Münch unterscheidet hierin sehr scharf zwischen Parasiten und Perthophyten, da sie ganz verschiedene Dispositionszustände der Pflanze erfordern, um zur Entfaltung und zur krankheitserregenden Wirkung zu kommen (S. 285). Danach können wir *Cytospora chrysosperma* aber nie als Parasiten ansehen, sondern ihn höchstens als Perthophyten bezeichnen. Münch schreibt wörtlich: „Perthophyten sind in hohem Maße von dem Gesundheitszustand der Nährpflanzen abhängig, indem sie in geradem Gegensatz zu dem Parasiten durch Krankheiten der Nährpflanzen gefördert werden. Viele Perthophyten können intakte Nährpflanzen überhaupt nicht angehen oder werden von ihr, nachdem sie eingedrungen sind, nachträglich bei gebesserter Gesundheit unterdrückt" (S. 286). Und dies trifft für *Cytospora chrysosperma* zweifelsohne zu! Hierfür sprechen am deutlichsten die Versuche von Schreiner (1931, S. 24). Und weiter: „Nur Perthophyten können Schwächeparasiten sein".

Über die weitere Frage einer zeitlichen Krankheitsdisposition während der Ruheperiode der Pflanzen, wie sie von Schreiner (1931) und später von Müller-Stoll und Hartmann (1950) berichtet werden, haben unsere Versuche keine Anhaltspunkte gezeitigt, im Gegensatz zu Versuchen mit *Dothichiza populea*. Die Versuche von Schreiner an Stecklingen dürften unseres Erachtens mit den vorliegenden nicht ohne weiteres verglichen werden, da es sich hier immer nur um Pflanzenteile handelt und diese, mindestens

vorübergehend, sich in einem Schwächezustand befinden. Diesbezügliche Versuche mit Stecklingen und abgeschnittenen Pappelzweigen wurden deshalb von der vorliegenden Arbeit abgetrennt, und es wird später darüber berichtet werden. Zu den Versuchen von MÜLLER-STOLL und HARTMANN, bei denen die Infektion gegen Ende des Sommers einen viel höheren Anteil an befallenen Pflanzen als im Frühjahr ergaben, muß nochmals daran erinnert werden, daß, wie die Verfasser auch erwähnen, der Wasserhaushalt der Bäume durch die sommerliche Dürre des Jahres 1947 beeinträchtigt war. Es kann natürlich sein, daß bei unseren Verhältnissen, die im Winter 1952/53 herrschenden klimatischen Bedingungen ein Fortschreiten des Befalls durch *Cytospora* behinderten, so daß dieser Frage eventuell erneute Aufmerksamkeit zugewandt werden müßte.

Eine Krebsbildung durch *Cytospora* konnte während unserer Versuche nicht beobachtet werden, so daß an dem eingangs angenommenen Standpunkt festgehalten werden kann.

4. Bekämpfungsmaßnahmen

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, daß die Pappeln nur dann von *Cytospora chrysosperma* befallen werden, wenn sie sich in einem Schwächezustand befinden oder absterben. Die wirksamsten Gegenmaßnahmen liegen deshalb darin, die Pflanzen vor diesen Schwächezuständen zu schützen und ihre Wuchsfreudigkeit zu fördern. Schlechte Standorte und extreme Klimabedingungen sind für den Pappelanbau ungeeignet. Auf gute Nahrungs- und Wasserversorgung ist zu achten, besonders bei frisch verpflanzten Jungpappeln. Längere Trockenheit bietet die beste Voraussetzung für einen *Cytospora*-Befall. Beschädigungen sind, soweit möglich, zu vermeiden, wenn sie sich auch nicht immer ganz verhindern lassen werden. Obwohl das Vorhandensein von *Cytospora* befallenen Pflanzen und Pflanzenteilen für gut wachsende Pappeln keine unmittelbare Gefahr darstellt, sind diese vorsorglich zu entfernen und zu verbrennen, zumal sie für eventuell vorhandene Stecklingsquartiere eine gewisse Gefahr sind. Befallene Pflanzen müssen auf den Stock gesetzt werden. Eine direkte chemische Bekämpfung kommt nicht in Frage, doch ist an eine Desinfektion von Stecklingsmaterial zu denken. Über den Anbau von widerstandsfähigen Sorten gehen die Meinungen noch sehr auseinander, auch liegen keine genauen Angaben vor. Als anfällig werden *Populus alba, P. deltoides, P. italica, P. robusta* und *P. vernirubens* genannt (LONG, 1918, MOSS, 1922, MÜLLER-STOLL und HARTMANN, 1950), doch dürfen bei solchen Beobachtungen die gerade herrschenden besonderen Umstände nicht außer acht gelassen werden. Dafür sprechen die Beobachtungen von MÜLLER-STOLL und HARTMANN, wonach *P. trichocarpa* und *P. berolinensis* bei der Kalamität im Pappelgarten von Graupa 1946 sich als resistent erwiesen, im Frühjahr 1948 jedoch gerade an diesen beiden Sorten Schäden auftraten. Wir selbst haben an Hand unserer Infektionsversuche, wie bereits erwähnt, keine unterschiedliche Anfälligkeit gegenüber *Cytospora* an gut wachsenden Pflanzen fest-

stellen können. Unseres Erachtens dürften ein standortsgemäßer Sortenanbau (s. auch MÜNCH, 1949) und entsprechende Pflegemaßnahmen die wichtigste Voraussetzung für eine erfolgreiche Pappelkultivierung und die Verhütung von *Cytospora*-Schäden sein.

5. Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Das durch *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fr. hervorgerufene Krankheitsbild wird beschrieben und als „Rindenbrand" bezeichnet. Es wird die Auffassung vertreten, daß der Pilz keinen „echten Baumkrebs" hervorrufen kann.

2. Über 600 mit *Cytospora chrysosperma* vorgenommene Infektionen an gut wachsenden Pappeln im Freiland, die während der Monate Februar, März, April, Mai, Juni, Juli, September und Oktober 1952 und im Februar 1953 in verschiedenen Forstämtern von Niedersachsen und im Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung in Schmalenbeck durchgeführt wurden, ergaben nur 24 durch *Cytospora chrysosperma* befallene Pflanzen.

3. Durch Infektionsversuche an geköpften Pflanzen wurde festgestellt, daß der Pilz immer nur so weit vordringt, wie der betreffende Pflanzenteil dem Saftstrom nicht mehr angeschlossen ist.

4. Infektionen an künstlich geschwächten Pflanzen oder Pflanzenteilen zeigten nach fünf bis sieben Wochen *Cytospora*-Pykniden.

5. Aus den unter 2., 3. und 4. angeführten Versuchen und aus den verschiedenen Beobachtungen wird geschlossen, daß bei einem Befall durch *Cytospora chrysosperma* immer eine Schwächung der Pflanze vorhergegangen sein muß bzw. in vielen Fällen die Pflanzen aus anderen Gründen im Absterben begriffen waren.

6. *Cytospora chrysosperma* kann höchstens als Perthophyt, auf keinen Fall als Parasit angesehen werden.

7. Eine besondere Anfälligkeit der Pappeln während der Wintermonate konnte nicht festgestellt werden, doch ist diesem Punkt eventuell erneute Aufmerksamkeit zuzuwenden.

8. Bekämpfungsmaßnahmen werden erörtert. Als wichtigster Faktor ist ein Pappelanbau auf solchen Standorten und unter solchen klimatischen Bedingungen notwendig, daß das Eintreten von Schwächezuständen verhindert wird.

Literaturverzeichnis

APPEL, O. und WESTERDIJK, J., 1919: Durch Pilze hervorgerufene Pflanzenkrankheiten. Zrschr. Pflanzenkrkh. **29**, 176—186.

BRAUN, H. und RIEHM, E., 1950: Krankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen. Parey, Berlin u. Hamburg, 6. Aufl.

CHRISTENSEN, C. M., 1940: Studies on the biology of *Valsa sordida* and *Cytospora chrysosperma*. Phytopath. **30**, 459—475.

CIFERRI, R., 1951: Mallattie crittogamiche del Pioppo in Italia. Atti. Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. **8**, 205—229.

DAY, W. R., 1924: The watermark disease of the cricket-bat willow. Oxford For. Mem. No. 3.

DICK, U., 1949: Über eine bemerkenswerte Krankheit der Pappel (*Cytospora*-Krebs). Forstwirtsch.-Holzwirtsch., Berlin, 351—355.

DIEDICKE, H., 1912: *Sphaeropsideae, Melanconieae.* Kryptog. Fl. d. Mark Brandenburg **9**, Borntraeger, Leipzig.

DUFRÉNOY, J., 1930: Les maladies du peuplier. Impr. Commerc. Perette, Limoges. Zit. n. Rev. appl. Mycol. **10**, 418.

EVANS, 1922: Zit. n. SCHREINER, 1931.

FLORENZANO, G., 1949: Una specie di *Valsa* nuova pu l'Italia. Nuova G. Bot. Ital. N S **56**. Zit. n. Rev. appl. Mycol. **30**, 293.

GROVE, W. B., 1923: The British species of *Cytospora.* Kew. Bull. 1—30.

HARTLEY, C. und HAHN, G. G., 1920: Notes on some diseases of aspen. Phytopath. **10**, 143—146.

HUBERT, E. E., 1920: Observations on *Cytospora chrysosperma* in the North-West. Phytopath. **10**, 442—447.

KONING, H. C., 1938: The bacterial canker of poplars. Meded. Phytopath. Labor. „Willie Commeliin Scholten", Baarn, **14**, 3—42.

LIESE, J., 1936: Pappelerkrankung. Mitt. Dt. Dendrol. Ges. **48**, 278.

LONG, W. H., 1918: An undescribed canker of poplars and willows caused by *Cytospora chrysosperma.* Journ. Agric. Res. **13**, 331—345.

MOSS, E. H., 1922: Observations on two poplar cankers in Ontario. Phytopath. **12**, 425—427.

MÜLLER, R., 1953: Das wissenschaftliche Institut des Deutschen Pappelvereins in Brühl b. Köln. Dtsch. Pappelverein e. V., Bonn, 1—35.

MÜLLER-STOLL, W. R. und HARTMANN, U., 1950: Über den *Cytospora*-Krebs der Pappel (*Valsa sordida* Nitschke) und die Bedingungen für eine parasitäre Ausbreitung. Phytopath. Zeitschr. **16**, 443—478.

MÜNCH, E., 1909: Untersuchungen über Immunität und Krankheitsempfänglichkeit der Holzarten. Naturw. Zeitschr. Land- u. Forstw. **7**, 54—75, 87—114, 129—160.

— —, 1929: Über einige Grundbegriffe der Phytopathologie. Zeitschr. Pflanzenkrkh. **39**, 276—286.

— —, 1949: Die Forstpflanzenzüchtung. Herausg. B. Huber, München.

PETRACK, F. und ESFANDIARI, E., 1941: Beiträge zur Kenntnis der iranischen Pilzflora. Ann. mycol., Berlin, **39**, 2—3, 204—228. Zit. n. Rev. appl. Mycol. **21**, 99.

POVAH, A. H. W., 1921: An attack of poplar canker following fire injury. Phytopath. **11**, 157—165.

REGLER, W., 1952: Die wichtigsten pilzlichen und bakteriellen Erkrankungen der Pappeln. Der Wald, Berlin, Sonderh. „Die Pappel", 33—38.

RICHTER, H., 1933: Krebs und Rindenbrand der Pappel. Mitt. Dt. Dendrol. Ges. **45**, 262.

SANFORD, C. B., 1929: Report of the Dominion Field Laboratory of Plant Pathology, Emonton, Alberta. Div. Bot., Canada Dept. of Agric., 107—116. Zit. n. Rev. appl. Mycol. **9**, 432.

— —, 1931: The *Cytospora* disease of Russian poplar. Rep. Dom. Bot. for 1930 Canada.

SCHREINER, E. J., 1931: Two species of *Valsa* causing disease in *Populus.* Amer. Journ. Bot. **18**, 1—29.

— —, 1931 a: The role of disease in the growing of Poplar. Journ. Forestry **29**, 79—82.

SCHWERDTFEGER, F., 1951: Pappelkrankheiten und Pappelschutz in: HESMER, H., Das Pappelbuch. Dtsch. Pappelverein, Bonn, 155—186.

TOGASHI, K., 1924: Some studies on a Japanese apple canker and its causal fungus, *Valsa Mali.* Journ. Coll. Agric. Hokkaido Univ. **12**, 265—324. Zit. n. SCHREINER, 1931.

VERONA, O. und FLORENZANO, G., 1946: Notizia preliminari sopra un disseceamento delle piante du pioppo. Agric. Ital. **46**, 209—301. Zit. n. Rev. appl. Mycol. **26**, 271.

ZYCHA, H., 1952: Die *Phomopsis*-Krankheit von Douglasie und Japanlärche. Forstwiss. Ctrbl. **71**, 65—79.

Istituto di Patologia vegetale-Università di Milano
Direttore: Prof. E. Baldacci
Centro Studi Antiparassitari Soc. Montecatini

Ricerche su di una specie di Fusarium (*Fusarium solani* [Mart] App. et Wr.), producente una Tracheomicosi del Peperone (*Capsicum annuum*)

per il Dott.

P. Scrivani

5 Fig.

Il Fusarium di cui alle presenti ricerche è stato ripetutamente isolato da piante di peperone coltivate nel territorio di Voghera: lo studio della malattia è stato effettuato da Baldacci e Corradini (1952), mentre da parte mia è stata fatta l'identificazione della specie e lo studio delle attitudini patogenetiche in condizioni sperimentali.

Dalla cultura originale è stata effettuata una serie di reisolamenti onde assicurarsi si trattasse di un unico ceppo. Ciò in conseguenza della constatazione che l'aspetto delle culture nei numerosi passaggi su vari terreni culturali presentava una certa variabilità. E' stato così ottenuto un ceppo a caratteri costanti, capace di riprodurre la sintomatologia della tracheomicosi su piantine di peperone, infettate artificialmente in serra (vedi avanti). I filtrati di cultura, ottenuti secondo la tecnica di Gäumann e coll. sono risultati tossici in modo vistoso verso germogli recisi di pomodoro e peperone fino alla diluizione di 1 : 16. Tentativi di isolamento del principio tossico*) seguendo il metodo di Clausen-Kaas e coll. hanno dato esito negativo; è da ritenere perciò che il fungo non produca licomarasmina. (Questa sostanza è stata invece regolarmente isolata in prove condotte in parallelo impiegando un ceppo di *Fusarium oxysporum* var. *lycopersici*, fornito cortesemente dal Prof. Gäumann, che qui ringrazio.)

Caratteri culturali del fungo

I caratteri culturali sono stati determinati dopo 5, 10 e 30 giorni per gli strisci in agar carote ed agar patate e dopo 10 e 30 giorni per le culture

del Centro.

*) La parte chimica è stata effettuata dal Dr. G. Losco della Sezione Chimica

su pappa di riso, decotti di carote e patate e liquido di Richard-Luz: contemporaneamente sono stati effettuati gli esami microscopici e le misurazioni micrometriche.

Su agar carote e patate il fungo forma un micelio biancastro: al centro presenta una venatura longitudinale, rilevata, mucosa, giallastra (su patate tale venatura col tempo può divenire verdastra, su carote la pigmentazione verde, verde-azzurra compare dopo circa 7—10 giorni). Sulla parte mucosa si trovano numerosi macroconidi per lo più trisettati di aspetto ialino. I microconidi, in genere poco numerosi o assenti del tutto, si originano dallo scarso micelio aereo.

Fig. 1. Sintomi tipici di avvizzimento in peperoni infettati da 7 giorni a sinistra e da 17 giorni a destra. In secondo piano piante testimoni

Su decotto di patata si forma un micelio giallastro dal quale col tempo si originano numerosi sporodochi verdi o verde-azzurri; su decotto di carote tale fenomeno é molto più vistoso. Sugli sporodochi si riscontrano numerosissimi macroconidi ialini.

Su liquido di Richard-Luz fin dai primi giorni si forma uno spesso micelio bianco, fioccoso, talvolta con sfumature rosse o violacee, specialmente verso i bordi del recipiente; la parte immersa nel liquido assume un color arancione.

Su pappa di riso la pigmentazione verde bluastra dello stroma si manifesta di preferenza a contatto ed in prossimità delle pareti della beuta; in questa zona si constata la presenza di un numero limitato di macroconidi; al centro della beuta il micelio assume un color bianco grigiastro ed il substrato una tonalità rosea. Dal micelio si originano numerosi macroconidi. Il fungo non dà alcun aroma.

In tutti i casi nei quali è stata notata la pigmentazione verde e verde-azzurra (e talvolta anche quella giallastra) è stato riscontrato il viraggio del colore al rosso violaceo dopo acidificazione.

All'esame microscopico i microconidi risultano di forma ellittica o cilindrica, raramente muniti di un setto, delle dimensioni di micron 6—12 $\times$ 1,5—3. I macroconidi hanno forma piuttosto tozza: a pisello oppure a salsiccia, con variazione del diametro trasversale evidente soltanto all'estremità. Talvolta la base ha forma di piede, oppure è munita di una appendice

papillosa, più spesso è provvista di una piccola sporgenza. In genere si riscontrano 3 setti, rari i 4 e rarissimi i 5 setti.

Dimensioni micron:	0 setti	3 setti	4 setti	5 setti
	10—19 × 4,5	29—40 × 5,8—6	40—50 × 6	45—60 × 6

Le clamidospore, non molto frequenti, possono essere intercalari oppure apicali sulle ife e sui macroconidi, in genere singole, tondeggianti, a parete liscia e delle dimensioni di micron 8,5 × 9.

Identificazione

I caratteri suelencati rientrano in quelli descritti da Wollenweber e Reinking (1935) per il gruppo *Martiella* e più esattamente, in base alle dimensioni del diametro trasversale, al *Fusarium solani* (Mart) con riferimento alla var. *Martii* (App. et Wr. sub specie) Wr. Per le dimensioni dei conidi trisettati e la scarsa frequenza dei conidi con 5 e più setti, il nostro ceppo si avvicina alla forma 1 Wr, ma ne differisce per le misure delle clamidospore.

Per il particolare quadro patologico determinato sull'ospite propendo per una forma diversa che indico come forma 4. D'altro canto ad un esame microscopico comparativo, i macroconidi del ceppo in questione risultano diversi da quelli di *Fusarium oxysporum* var. *lycopersici* (con il quale avrebbe più affinità agli effetti patologici) sia per la forma e le dimensioni del diametro trasversale, sia per lo spessore della membrana, carattere questo che assieme agli altri serve a distinguere specificatamente i gruppi *Elegans* e *Martiella*.

Prove d'infezione

L'attitudine a produrre avvizzimenti sugli ospiti non è del tutto nuova per la specie. Thomas (1949) ha segnalato un avvizzimento per *Fusarium solani* forma *eumartii* su patate.

Fig. 2. Peperoni infettati da 70 giorni con un ceppo di *Fusarium* reisolato da piante infettate. In secondo piano piante testimoni

L'avvizzimento è determinato secondo questo A. da polisaccaridi. WOLLENWEBER e REINKING (1935) riportano anche una segnalazione di BENLOCH e DOMINGUEZ per un Fusarium del gruppo *Martiella,* capace di provocare una epifitia a carattere di tracheomicosi sui peperoni. Non ho potuto consultare l'originale di questo lavoro.

Ho ritenuto opportuno effettuare una serie di prove di patogenicità. Tutti i tentativi effettuati su piantine di peperone di età diversa, mediante infezione al terreno prima oppure al momento del trapianto sono falliti. Ma allorchè l'infezione è stata effettuata direttamente sulle piantine previa lesione delle radici od incisione sul fusto, il fungo è riuscito a penetrare entro l'ospite e a provocare la sindrome tipica.

Fig. 3. Peperoni infettati da 90 giorni. Al centro piante testimoni; a sinistra piante infettate rimaste nane per un periodo, e che poi hanno ripreso a crescere. A destra piante nane prossime alla morte

A seguito di numerose prove sono state determinate le condizioni ottimali per ottenere l'infezione su piante di peperone: tali condizioni concordano con quanto riportato dalla letteratura in argomento per altri Fusarium. La tecnica adottata è la seguente: piantine di peperone di 5—10 cm. di altezza vengono tolte dai vasi, immerse con le radici più volte in acqua per allontanare il terriccio o la sabbia, successivamente le radici vengono disinfettate con alcool a 70 ° e subito dopo sciacquate più volte in acqua sterile, dopodiché vengono parzialmente asportate e la zona del colletto leggermente incisa con bisturi. A questo punto le piantine vengono immerse fino al colletto in una sospensione di conidi per 15′.

Tale sospensione viene ottenuta da strisci in agar patate glucosato di 10—15 giorni, la cui patina è stata sospesa in acqua sterile, oppure più semplicemente da culture in decotto di carote (dopo incubazione di 7—10 giorni), omogeneizzate per 5′ in ambiente sterile. L'attecchimento risulta più regolare se il numero di conidi per cc. si avvicina o supera la cifra di un milione.

Dopo l'infezione le piantine vengono trapiantate in vasi (riempiti con terriccio o sabbia) previamente sterilizzati in autoclave e mantenute per

48 ore a 20° C. ed in seguito a 25—27° C. Durante tutto il periodo di incubazione ed osservazione i vasi debbono essere innaffiati giornalmente. A seconda dei casi i primi sintomi (vedi avanti) possono manifestarsi dopo 4—10 giorni (piantine dello stesso vaso alle volte presentano sintomi a distanza di 10 e più giorni l'una dall'altra). In genere entro 30—35 giorni la maggior parte delle piantine è avvizzita.

Adoperando questo metodo è stato ottenuto un attecchimento variabile dal 60 al 100 %. É stato constatato che non è assolutamente necessario trapiantare le piantine infettate in vasi sterili, bisogna invece curare la sterilità della attrezzatura adoperata durante l'infezione. Prove di infezione su piantine più sviluppate si sono dimostrate più difficoltose.

Fig. 4. Sintomi di avvizzimento in piante ammalate in campo (da Baldacci e Corradini)

Dalle piante infettate con il metodo descritto a più riprese sono stati reisolati ceppi del *Fusarium solani*, che si sono dimostrati a loro volta capaci di riprodurre la malattia su piantine di peperone. In tutte le prove di reisolamento, il patogeno è stato isolato solamente da piante inoculate che presentavano evidenti s i n t o m i d i a v v i z z i m e n t o. In ciascuna prova i testimoni hanno subito lo stesso trattamento delle piante inoculate con la differenza che l'immersione veniva effettuata in acqua sterile oppure in decotto di carote sterile, anzichè nella sospensione di conidi: in questo caso non si sono mai avuti sintomi di malattia o di deperimento. Il confronto fra la virulenza del ceppo selezionato con i vari passaggi in coltura, di cui si è detto in principio, rispetto a quello della cultura originaria d'isolamento, ha rilevato un identico comportamento, in quanto ambedue i ceppi a distanza di una ventina di giorni dall'infezione, in due prove successive,

hanno determinato l'avvizzimento in 11 piantine su 11, mentre negli 11 testimoni non è stato riscontrato alcun sintomo. Prove di infezione su piantine di pomodoro e melanzana adoperando la stessa tecnica hanno dimostrato che queste sono pure suscettibili al ceppo in questione ma forse in minor misura.

Sintomatologia delle infezioni artificiali

L'analisi dei sintomi riscontrati nelle varie prove effettuate ha reso evidente una certa variabilità. Nella maggior parte dei casi le prime manifestazioni consistono in un leggero arricciamento e talvolta nella comparsa di macchie necrotiche all'apice delle foglie primarie, le quali in breve si afflosciano; il successivo appassimento del picciolo non porta in genere al distacco della foglia, che anzi rimane attaccata per vari giorni. A distanza di poche ore e alle volte di giorni gli stessi sintomi si manifestano anche sulle foglie più giovani. L'appassimento del fusticino può seguire immediatamente oppure essere ritardato. Quando sono infettate piantine molto giovani si nota una strozzatura nerastra poco sotto il colletto, in corrispondenza della quale risultano necrotizzate la parte corticale ed il libro; nelle piante più sviluppate tale strozzatura non è stata constatata sempre. Tale sintomo è stato riscontrato anche in campo (vedi BALDACCI e CORRADINI, 1952).

Fig. 5. Aspetto della malattia in campo (da BALDACCI e CORRADINI)

In genere la colorazione bruno-rossastra dei fasci legnosi risulta visibile, dopo asportazione della corteccia, in particolar modo sopra il colletto; è più o meno estesa e interessa tutto lo xilema oppure solamente alcuni fasci a seconda della gravità dei sintomi presentati dalla pianta.

Talvolta le piantine dopo la manifestazione dell'avvizzimento di alcune foglie non hanno dimostrato altri sintomi all'infuori di un rallentamento

dello sviluppo; tale rallentamento in qualche caso è perdurato a lungo tanto che a distanza di 45 giorni dall'infezione, in una prova, le piantine superstiti avevano una altezza di 2—3 cm, mentre quelle testimoni erano alte 15—24 cm; in un'altra prova piantine di pomodoro infettate dopo 50 giorni misuravano 8 cm e quelle testimoni 42 cm di altezza. In questi casi di nanismo è stato notato un apparato radicale molto ridotto e la colorazione dei fasci era limitata ad un breve tratto sopra al colletto.

Riferimenti a casi di nanismo in piante affette da tracheoverticillosi sono riportati da Presley (1950).

Nelle figure 1—2—3, sono riportati esempi di risultati ottenuti nelle prove di infezioni; nelle figure 4—5 sono dati esempi della malattia in campo.

Riassunto

Un ceppo di F u s a r i u m, isolato da piantine di peperone, affette da tracheomicosi, è stato identificato come appartenente alla specie *Fusarium solani* (Mart.) var. *martii* (App. et Wr.) Wr. Il ceppo non produce licomarasmina; i filtrati risultano tossici su germogli recisi di pomodoro e peperone fino alla diluizione di 1 : 16.

Zusammenfassung

Ein im Bezirk von Voghera als Erreger der Paprikawelke isolierter Stamm von Fusarium wurde als *Fusarium solani* (Mart.) var. *martii* (App. et Wr.) Wr. identifiziert. Dieser Stamm bildete kein Lycomarasmin. Seine Kulturfiltrate in den Konzentrationen bis 1 : 16 lassen abgeschnittene Tomaten- und Paprikasprosse welken.

Summary

A strain of Fusarium, isolated from seedlings of pepper plant affected by tracheomycosis has been identified as belonging to *Fusarium solani* (Mart.) var. *martii* (App. et Wr.) Wr. This strain does not produce Lycomarasmine, although the filtrates have proved to be toxic for cutted sprouts of tomato and pepper plant as far as to the dilution of 1 : 16.

Bibliografia

1. Baldacci, E. e Corradini, V.: Una malattia del peperone da *Fusarium solani:* epidemiologia e prove di lotta, 1953 (in corso di stampa).
2. Benloch, M. e Dominguez, F.: La enfermedad de los pimentales en Aldeanueva del Camino. Bol. Par. Veg. y Ent. Agr. (1934), 7, 1.
3. Clauson-Kaas, N., Plattner, Pl. A., Gäumann, E.: Über ein welkeerzeugendes Stoffwechselprodukt von *Fusarium lycopersici* Sacc. Ber. Schweiz. Bot. Ges. (1944), 54, 523.
4. Gäumann, E., Naef-Roth, S., Miescher, G.: Untersuchungen über das Lycomarasmin. Phytopath. Zeitschr. (1950), XVI, 3, 257.
5. Presley, J. T.: Verticillium wilt of cotton. Phytopathology (1950), 40, 497.
6. Thomas, C. A.: A wilt-inducing polysaccaride from *Fusarium solani* f. *eumartii.* Phytopathology (1949), 39, 572.
7. Wollenwerber, H. W. e Reinking, O. A.: Die Fusarien. Parey, Berlin 1935.

Besprechungen

Braun, H. und **Riehm, E.,** Krankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen und ihre Bekämpfung. 7. neubearbeitete Auflage. Verlag Paul Parey, Berlin u. Hamburg 1953. 348 Seiten mit 290 Textabbildungen, brosch. DM 24,80, Ganzleinen geb. DM 26,80.

Schon nach drei Jahren wurde eine Neuauflage des bekannten und beliebten Lehrbuches nötig — ein Zeichen für das Interesse weiter Kreise am Pflanzenschutz, aber gewiß auch dafür, daß das Buch von Braun und Riehm den richtigen Weg gefunden hat, um den jungen Wissenschaftler und den Praktiker in das umfangreiche Gebiet einzuführen.

Die Verfasser teilen sich wieder in die Bearbeitung des Stoffes, doch haben sie sich gut aufeinander abgestimmt. Die Darstellung bleibt daher durch das ganze Buch recht einheitlich. Ein allgemeiner Teil (Braun) behandelt zunächst die gedanklichen Grundlagen der Pflanzenschutzforschung, darauf die Biologie der pflanzenschädlichen Organismen, die Praxis des Pflanzenschutzes und seine Organisation.

Im speziellen Teil werden dann Getreide, Futterpflanzen, Handelsgewächse, Reben (Riehm) sowie Hackfrüchte, Gemüse und Obst (Braun) in bezug auf ihre pflanzenschutzlichen Probleme besprochen. Unberücksichtigt bleiben die Forstpflanzen, die Zierpflanzen und die Unkräuter.

Das Buch ist überall auf den neuesten Stand unseres Wissens gebracht worden. Dies zeigt sich z. B. in der Behandlung von neuerdings wichtig gewordenen Schädlingen wie Rübenderbrüßler und Apfelschalenwickler, in der Besprechung der neuzeitlichen chemischen Pflanzenschutzmittel und in der Darstellung der heutigen internationalen Pflanzenschutz-Organisation. Die zahlreichen Literaturhinweise sind ebenfalls durch wichtige neuere (vorwiegend deutsche) Arbeiten ergänzt worden. Der Benutzer wird damit in die Tiefe des ihn interessierenden Spezialproblemes geführt.

Sehr erfreulich ist die Verbesserung der Abbildungen (sie war aber auch notwendig!). Vor allem die vom Institut für Pflanzenkrankheiten in Bonn gelieferten Originalaufnahmen verdienen höchstes Lob; die Druckerei (Elsnerdruck-Berlin) bringt sie in technischer Vollendung. Eine Anzahl älterer, aus anderen Publikationen übernommener Bilder hält nicht das Niveau und sollte in der nächsten Auflage durch bessere Originale ersetzt werden.

Das Buch ist als Lehrbuch für den Studenten und als Nachschlagewerk für den Praktiker vorzüglich geeignet. Es wird zweifellos in der neuen Auflage wieder der Wissenschaft und der Wirtschaft Nutzen bringen.

Kotte, Freiburg i. Br.

Aus dem Institut für spezielle Botanik
der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich
Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann

Beitrag zur Kenntnis der *Endothia parasitica* (Murr.) And., dem Erreger des Kastaniensterbens

Von

G. Bazzigher

Mit 27 Abbildungen und 7 Tabellen

Inhalt: A. Einleitung. — B. Über Erreger, Wirt und Krankheitsverlauf. I. Die systematische Stellung des Erregers. II. Der Wirtskreis des Erregers. III. Der Krankheitsverlauf. a) Die Infektion; b) Die Proliferation des Erregers; c) Die Erkrankung. IV. Eigene Infektionsversuche. a) Die Infektionsmethode; b) Die Infektionsversuche. — C. Wachstum und Toxinbildung des Erregers in vitro. I. Die Wachstumsbedingungen. a) Die Nährmedien; b) Die Temperatur als Wachstumsfaktor. II. Die Toxinbildung. a) Testmethoden; b) Die Bedingungen der Toxinbildung; 1. Die Ernährungsbedingungen, 2. Die Kulturdauer, 3. Die Abhängigkeit der Toxinausbeute von der Inokulummenge, 4. Die Abhängigkeit der Toxinproduktion von der Temperatur, 5. Die Beziehung zwischen pH, Wachstum und Toxinproduktion, 6. Die Toxinproduktion bei verschiedenen *Endothia*-Spezies; c) Die Isolierung des Toxins; d) Eigenschaften des Toxinrohextraktes; 1. Der Einfluß von Hitzeeinwirkung und pH-Veränderung auf die Aktivität des Toxinrohextraktes, 2. Die Löslichkeit des Toxins; e) Die biologische Wirkung des Toxinrohextraktes; 1. Die Wirkung des Toxins auf verschiedene Bakterien und Pilze, 2. Die Wirkung des Diaporthins auf höhere Pflanzen. — D. Zusammenfassung. — E. Literaturverzeichnis.

A. Einleitung

Endothia parasitica (Murr.) And., der Erreger des Kastanienkrebses, wurde anfangs dieses Jahrhunderts zum erstenmal in den USA festgestellt. Seit seinem ersten Auftreten bis heute hat dieser Pilz durch äußerst heftige Epidemien die Kastanien Nordamerikas praktisch zum Verschwinden gebracht und wird, soweit vorauszusehen ist, auch in Europa der *Castanea sativa* ein gleiches Schicksal bereiten. Wirksame Bekämpfungsmöglichkeiten stehen uns heute noch nicht zur Verfügung. Auf lange Sicht dürfte sich vielleicht einzig der Ersatz der anfälligen Kastanienarten durch resistentere bewähren.

Die nachfolgende Arbeit ist als Beitrag zur Kenntnis der *Endothia parasitica* gedacht. Sie wurde dank des großzügigen Entgegenkommens von Bund und Kanton Tessin möglich. Den zuständigen Behörden und insbesondere meinem verehrten Lehrer, Herr Prof. Dr. E. Gäumann, möchte ich an dieser Stelle meinen besten Dank aussprechen.

B. Über Erreger, Wirt und Krankheitsverlauf

I. Die systematische Stellung des Erregers

Der Erreger des Kastanienkrebses wurde 1906 erstmals durch MURRILL unter dem Namen *Diaporthe parasitica* (Murrill) beschrieben (MURRILL 1906). REHM gab ihm 1907 den Namen *Valsonectria parasitica* (Murr.) Rehm (REHM 1907). Im Jahre 1912 erklärte ihn CLINTON als eine parasitische Form einer früher schon bekannten *Endothia* und nannte ihn *Endothia gyrosa* var. *parasitica* (Murr.) Clinton (CLINTON 1912). Im gleichen Jahr taufte ihn ANDERSON auf den heute noch gültigen Namen *Endothia parasitica* (Murr.) And. (ANDERSON 1912) um.

Der Kastanienkrebserreger, *Endothia parasitica*, gehört zu den *Ascomyceten* und hier innerhalb der *Diaporthales* zu den stark stromatischen Formen, welche ihre Stroma in ein konidienbildendes Ectostroma und ein perithecienbildendes Entostroma gliedern (GÄUMANN 1949).

Es steht heute noch nicht fest, ob innerhalb der Gattung *Endothia parasitica* biologische Rassen existieren. Es wurden bis jetzt beispielsweise keine Unterschiede, weder in parasitologischer noch in toxikologischer Hinsicht, zwischen einem aus Kastanien isolierten und einem aus *Quercus* isolierten Stamm festgestellt. Dies bedeutet allerdings keineswegs eine Verneinung der möglichen Existenz solcher Biotypen bei *Endothia parasitica*.

II. Der Wirtskreis des Erregers

Die Hauptwirte von *Endothia parasitica* gehören zu den *Fagaceae* und innerhalb dieser Familie zu der Gattung *Castanea*. Die Nebenwirte sind wohl zur Hauptsache in der Reihe der *Fagales* zu finden, doch haben sich gelegentlich auch Vertreter der *Juglandales*, der *Polycarpicae* und der *Terebinthales* als anfällig erwiesen. Diese Feststellung gilt für nordamerikanische Verhältnisse, wo infolge der viel reichhaltigeren Flora naturgemäß ein viel größeres Angebot an potentiellen Wirten bestehen muß, als dies in Europa der Fall sein kann. In Tabelle 1 sind sämtliche bis heute bekannten Wirte von *Endothia parasitica* zusammengestellt, und zwar der mutmaßlichen Anfälligkeit nach geordnet (es ist leider nicht möglich, in dieser Hinsicht exaktere Vergleiche zu ziehen). Diese Tabelle beginnt mit den hochanfälligen *Castanea*-Spezies und endet mit den sehr schwach anfälligen Vertretern der *Juglandales*, *Polycarpicae* und *Terebinthales*. Eine Mittelstellung in der Anfälligkeit nehmen *Quercus* und *Fagus* ein.

Seit einigen Jahren (BIRAGHI 1950) sind auch in Europa *Quercus pubescens* Willd., *Quercus petraea* (Mattuschka) Lieblein und *Quercus Ilex* L. als neue Wirtspflanzen von *Endothia parasitica* bekannt geworden. Im Frühjahr 1952 wurde dieser Pilz auch in verschiedenen Gegenden des Kantons Tessin auf *Quercus pubescens* und *Quercus petraea* festgestellt. Der aus krankem Eichenmaterial isolierte Erreger wurde auf Kastanien rückinfiziert, und es ergab sich in der Folge das bekannte Krankheitsbild. Das Ergebnis dieses Rückversuches läßt schließen, daß es sich um den normalen *Endothia*-Stamm

handelt, welcher bei Kastanien bekannt ist. Bei Infektionsversuchen an Eichen und Kastanien mit aus *Quercus* und aus Kastanien isoliertem Erreger konnten keine Unterschiede in bezug auf eine eventuelle Spezialisierung und auf Pathogenität festgestellt werden.

Tabelle 1
Wirtsspektrum von *Endothia parasitica*
(Zusammenstellung verschiedener Literaturangaben)

Castanea dendata (Marsh.) Borkh. (2, 7, 8)
Castanea sativa Miller (3, 7)
Castanea henryi Rehd. and Wils. (7)
Castanea ozarkensis Ashe (7)
Castanea pumila (L.) Mill. (7, 8)
Castanea alabamensis Ashe (7)
Castanea alnifolia Nutt. (7)
Castanea ashei Sud. (7)
Castanea floridana (Sang.) Ashe (7)
Castanea seguini Dode (7)
Castanea crenata Sieb. and Zucc. (7)
Castanea mollissima Bl. (7)
Castanopsis chrysophylla (Hook.) DC. (5, 6, 8)
Castanopsis (asiatische Spezies) (5, 6)
Quercus stellata Wangenh. (4, 6)
Quercus montana Willd. (1, 6)
Quercus petraea (Mattuschka) Lieblein (3)
Quercus pubescens Willd. (3)
Quercus Ilex L. (3)
Quercus velutina Lam. (2, 9)
Quercus alba L. (2, 9)
Quercus prinus L. (2, 9)
Quercus falcata Michx. (9)
Quercus Muehlenbergii Engelm. (1)
Quercus coccinea Muench. (2, 9)
Fagus silvatica L. (eigene Infektionsversuche)
Rhus typhina L. (1, 2, 5, 6, 8, 9)
Acer rubrum L. (5, 6, 8, 9)
Acer pennsylvanicum L. (9)
Acer saccharum Marsh. (5)
Acer palmatum Thunb. (5)
Carpinus caroliniana Walt. (9)
Ostrya virginiana (Mill.) K. Koch (5, 9)
Carya ovata (Mill.) K. Koch (2, 5, 6, 8, 9)
Liriodendron tulipifera L. (9)

1. Anderson, 1913.
2. Anderson, 1914.
3. Biraghi, 1950.
4. Clapper, 1946.
5. Darpoux, 1949.
6. Gravatt, 1949.
7. Graves, 1950.
8. Heald, 1943.
9. Shear, 1917.

Abb. 1. *Endothia*-„Krebs“ an *Quercus pubescens* Willd. 2/3 nat. Größe.
(Aufnahme: Photographisches Institut, ETH, Zürich)

Um ein etwas genaueres Bild über den Wirtskreis von *Endothia parasitica* zu bekommen, wurden Infektionsversuche an verschiedenen Waldbäumen und Sträuchern gemacht. Diese Versuche wurden im Freiland und, soweit möglich, auch unter Gewächshausbedingungen durchgeführt. Die bis jetzt vorliegenden

Abb. 2. *Endothia parasitica* an einem Zweig von *Fagus silvatica* L. Dieser Zweig welkte drei Monate nach der Infektion. Die Inkubation erfolgte unter Gewächshausbedingungen. Nat. Größe.
(Aufnahme: Photographisches Institut, ETH, Zürich)

Ergebnisse zeigen, daß neben den erwähnten Eichenarten auch *Fagus silvatica* L. anfällig gegenüber *Endothia parasitica* ist. Auch aus diesem Buchenmaterial wurde der Pilz isoliert und auf Kastanien mit Erfolg rückinfiziert. Abb. 1 und Abb. 2 zeigen endothiakranke Eiche und Buche.

III. Der Krankheitsverlauf

a) Die Infektion

Der Propagation des Erregers stehen zwei Sporenarten zur Verfügung:

Konidien: Sie werden in orangefarbenen Sporenlagern, den Pyknidien, gebildet. Bei genügender Feuchtigkeit werden sie als würmchenförmige, sehr feine Sporenschnüre ins Freie gestoßen (Abb. 3). Diese Gebilde sind makroskopisch sichtbar; sie können unter Umständen mehrere Millimeter Länge aufweisen und sind aus Millionen von Sporen zusammengesetzt. Die Konidien werden vor allem durch Wind und Regen (insbesondere bei turbulenten Strömungen), ferner durch Insekten und Vögel verfrachtet. Diese Sporenart ist speziell für den Nahtransport geeignet.

Ascosporen: Sie werden in etwas helleren und kleineren, orangefarbenen Sporenlagern, in Perithecien gebildet. Charakteristisch für *Endothia parasitica* ist der lange Perithecienhals. Die Ascosporen werden in diesen hinausgepreßt, mittels eines speziellen Mechanismus ins Freie geschleudert und dann durch den Wind weitertransportiert. Diese Sporenart ist hauptsächlich für den Ferntransport geeignet.

Abb. 3. Orangefarbene Sporenschnüre von *Endothia parasitica*. Vergr. etwa 20×. (Aufnahme: Photographisches Institut, ETH, Zürich)

Als Eintrittspforte für den Erreger dienen Wunden ganz verschiedener Art und Herkunft. Besonders wirksam sind Quetschwunden, wie sie z. B. bei Hagelschlag entstehen, ferner Tierfraß (Insektenschäden, Wildschäden). Von der Wunde aus dringt dann der Pilz in die umliegenden Gewebe.

b) Die Proliferation des Erregers

Nach dem Haften der Infektion breitet sich der Pilz in den für sein Wachstum besonders geeigneten Geweben aus. Besondere Affinität besteht zum Kambium, zu den inneren Rindenpartien und zum Holz der äußeren Jahrringe. Die durchwucherten Gewebe werden außer Funktion gesetzt. Der Ausbreitung des Erregers im Wirtsinnern sind nun aber auch verschiedene Hindernisse entgegengestellt. Speziell interessiert uns hier ein Resistenzfaktor: die Tannine. Nienstaedt (1953) zeigte, daß Tannine durch *Endothia parasitica* in Phenole aufgespalten werden. Diese Phenole wirken unmittelbar toxisch auf den Pilz. Die Schädigung ist jedoch nicht so stark, daß er zurückgedämmt würde, vielmehr bewirkt sie nur eine Verlangsamung in der Ausbreitung des Erregers. Die unterschiedliche Resistenz von *Castanea mollissima* und *Castanea dentata* schreibt Nienstaedt unterschiedlicher Zusammensetzung der Tannine zu, die dementsprechend in verschieden wirksame Phenole aufgespalten werden, wobei die Phenole des *Mollissima*-Tannins toxischer wirken als die des *Dentata*-Tannins.

Abb. 4. Älterer, von *Endothia parasitica* infizierter Ast von *Castanea sativa*, mit aufgesprungener, zum Teil abgelöster Rinde, unter der sich die fächerförmigen Mycelmatten entwickelt haben. 1/5 nat. Größe. (Aufn.: Photographisches Institut, ETH, Zürich)

c) Die Erkrankung

Nach ein bis zwei Monaten Inkubation erscheinen dunkel gefärbte Läsionen. Diese sind besonders auf junger glatter Rinde gut erkennbar. In einem späteren Stadium entstehen Längsrisse in der Rinde. Schließlich, je nach der Heftigkeit der Erkrankung, hypertrophiert die erkrankte Stelle oder sie sinkt ein. Es können alle Übergänge von Hypertrophie bis zu Atrophie festgestellt werden. Atrophie deutet im allgemeinen auf einen heftigen, Hypertrophie auf einen milden Krankheitsverlauf hin. — Nachträglich werden die Risse in der Rinde stärker. In diesem Zeitpunkt beginnt der Erreger zu sporulieren. — Bei älteren Ästen mit stärkerer Rinde kann die Erkrankung erst relativ spät erkannt werden. Das Aufbrechen der Rinde in Längsrissen und das darunter sichtbare, fächerartig sich verbreitende, cremefarbene Mycel nebst den meist schon in großer Anzahl vorhandenen Sporenlagern deuten auf ein schon stark fortgeschrittenes Krankheitsstadium hin (Abb. 4).

Den Abschluß der Erkrankung bildet meist das Eingehen des betroffenen Astes oder des ganzen Baumes. Nach einem eher zögernden Krankheitsverlauf welkt der Ast oder der Baum dann meist plötzlich, meist so rasch, daß die Blätter nicht mehr abgestoßen werden. — Je nach Art und Herkunft der Eintrittspforte befällt der Erreger vorwiegend die Krone oder den Stamm des Baumes. So sind Kronenerkrankungen typisch in Hagelschlaggegenden, während in anderen Gebieten dann wieder fast nur Stammerkrankungen festzustellen sind. Wie die Krankheit auch verläuft, sie endet in der Regel mit dem Eingehen eines einmal befallenen Baumes.

Nach dieser mehr übersichtsmäßigen Darstellung des Krankheitsverlaufes sind im folgenden Abschnitt noch einige eigene Infektionsversuche dargestellt.

IV. Eigene Infektionsversuche

Die folgenden Infektionsversuche wurden durchgeführt mit dem Ziel, Näheres über die Pathogenese zu erfahren und spezielle Hinweise für Anfälligkeits-Tests von Kastanienpflanzen zu erhalten.

a) Die Infektionsmethode

In diesen Infektionsversuchen wurde mit *Endothia parasitica*-Kulturen gearbeitet, die auf Malz-Agar (2 % Malzextrakt Wander + 1,5 % Agar in Leitungswasser) gezogen worden waren. In Petrischalen wurde auf diesen Agar unter möglichst sterilen Bedingungen ein Tropfen einer sehr dichten Konidiensuspension gebracht und mit einem Glasspatel regelmäßig verstrichen. Nach 14tägiger Inkubation bei 27 ° C waren die Kulturen für die Infektionsversuche verwendbar. Nach dieser Zeit haben sich auf dem Agar eine Menge kleiner Konidienlager gebildet. Angestrebt wurde eine möglichst dichte und gleichmäßige Verteilung dieser Sporenlager über die ganze Agarfläche. Die Infektion wurde nun folgendermaßen durchgeführt: Mit einem Korkbohrer (5 mm Durchmesser) wurden die Pilzkulturen im Agar zerschnitten. Mit dem gleichen Korkbohrer wurden auch Rindenverletzungen an den zu infizierenden Kastanienpflanzen erzeugt, und zwar in der Weise, daß sich die ganze Rinde bis aufs Kambium ablösen ließ. Die herausgestanzten Pilzkulturen wurden in diese Wunden gebracht (Mycel holzwärts). Um ein zu rasches Austrocknen des Inokulums zu verhindern, dichtete man die Infektionsstelle anschließend mit Cellophan-Selbstklebeband ab.

b) Die Infektionsversuche

Versuch 1

Versuchsfrage: Hat das Alter oder die Dicke des infizierten Astes einen Einfluß auf den Infektionserfolg und auf die Erkrankung?

Versuchsanordnung: Elf Bäume (etwa sechs- bis achtjährige Kastanienpflanzen) wurden an möglichst vielen verschiedenen Stellen unter möglichst vergleichbaren Bedingungen mit *Endothia parasitica* infiziert. Infektion: 31. März 1952; Kontrolle: 7. August 1952.

Versuchsergebnis: In den Ergebnissen zeigt es sich, daß weder Astdicke noch das Alter des Holzes einen Einfluß auf die Proliferation des Erregers haben. Der Infektionserfolg ist überall gesichert. Der Erreger wächst im allgemeinen im ganzen Baum mit gleichgroßer Geschwindigkeit. Eine Ausnahme machte in diesem Versuch Baum Nr. 348 mit einer deutlichen partiellen Resistenz (Abb. 5). In die Breite wächst der Pilz durchschnittlich 50 % langsamer als in die Länge, wie dies auch spätere Versuche zeigen werden. Dieser Wachstumsunterschied dürfte in histologischen und zytologischen Gegebenheiten des Wirtsgewebes liegen. — Für das Absterben eines infizierten Astes ist das Breitenwachstum des Pilzes maßgebend. Das Welken erfolgt, nachdem der Erreger den Ast in seinem ganzen Umfange erfaßt hat. Als Maß für die Anfälligkeit von Kastanien gegenüber *Endothia* dürfte vor

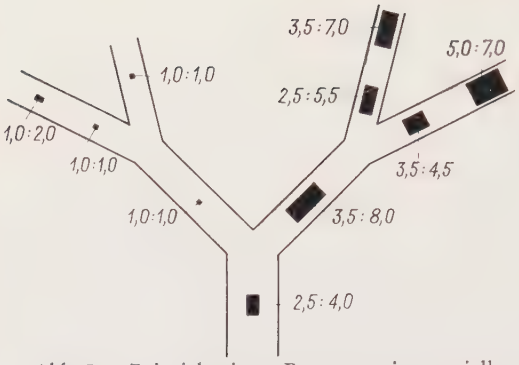


Abb. 5. Beispiel eines Baumes mit partieller Resistenz. In diesem Schema ist die Verteilung der verschiedenen Infektionsstellen ersichtlich. Die entstandenen Läsionen sind als schwarze Flächen dargestellt (die Zahlen geben das Verhältnis der Läsionsbreite zur Läsionslänge in cm ausgedrückt an)

allem die Geschwindigkeit der Ausbreitung des Erregers im Wirt (die Proliferation) heranzuziehen sein. Wir können auf die Krankheitsdauer abstellen, d. h. die Zeit, die zwischen Infektion und Krankheitsende (zwischen Infektion und Welke) liegt. In diesem Falle müssen wir Bezug nehmen auf die Astdicke. Eine andere Möglichkeit ist das direkte Ausmessen der entstandenen Läsionen zu beliebiger Zeit während der Krankheitsdauer. In diesem zweiten Falle brauchen wir nicht auf die Astdicke Bezug zu nehmen.

Versuch 2

Versuchsfrage: Spielt das Alter des Inokulums für das Gelingen der Infektion eine Rolle?

Versuchsanordnung: Baum Nr. 331 bis einschließlich Nr. 339 wurden je an zwei Stellen am Stamm infiziert (Infektionsstelle „oben" mit je einer 20 Tage alten Kultur, vorwiegend Mycel mit wenig Sporenlager;

Tabelle 2
Der Einfluß des Inokulumalters auf die Proliferation des Erregers

Baum Nr.	Mittlerer Durchmesser des Baumes bei den Infektionsstellen in cm	Läsionen in cm			
		„oben" 20 Tage alte Kultur		„unten" 50 Tage alte Kultur	
		Länge	Breite	Länge	Breite
331 Ast 1	2,7	11,0	5,5	2,0	1,5
Ast 2	4,0	6,0	3,0	3,0	2,0
332	2,6	7,0	5,0	5,0	2,5
333	2,7	10,0	6,5	1,0	1,0
334	3,0	10,0	5,0	2,0	1,5
335	4,0	11,0	5,0	1,0	1,0
336	3,5	17,0	11,0	1,0	1,0
337	1,5	2,0	1,0	0,5	0,5
338	3,2	11,0	6,5	5,5	5,0
339	1,8	9,0	5,0	1,5	1,0
S	29,0	94,0	58,5	22,5	17,0
S/10	2,9	9,4	5,9	2,3	1,7
in Prozenten		100 %	100 %	24 %	29 %

Infektionsstelle „unten" mit einer 50 Tage alten Kultur mit viel Sporenlagern. Die Infektionen wurden unter sonst gleichen Bedingungen durchgeführt).

Versuchsergebnis: Wir sehen aus den Ergebnissen (Tabelle 2), daß das Alter des Inokulums wichtig ist für das unmittelbar folgende Wachstum des Erregers. Alte *Endothia*-Kulturen zeigen eine deutliche Virulenzverminderung. Im angeführten Versuch sind die Läsionen, bei Verwendung alten Inokulums, etwa 70—75 % kleiner als bei Benutzung junger Kulturen für die Infektion.

Tabelle 3

Der Einfluß der Verwundung verschiedenartiger Gewebe auf die Infektion und Erkrankung

Baum Nr.	Durchmesser des Baumes an der Infektionsstelle in cm	Rindenverletzung Läsion in cm		Kambium freigelegt Läsion in cm		Holzverletzung Läsion in cm	
		Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite
311	4,0	5,0	2,5	11,0	9,5	9,0	6,5
312	5,0	4,0	2,0	12,0	8,5	7,0	4,0
313	2,7	5,0	2,5	12,0	5,0	6,0	4,0
314	3,0	2,0	1,0	10,0	5,0	2,0	1,0
315	2,0	6,5	6,5	11,0	7,5	10,0	6,5
316	3,0	6,0	2,0	11,0	8,5	5,0	4,0
317	4,0	4,0	2,0	11,0	7,5	7,0	4,5
318	3,7	4,5	3,0	10,0	6,0	7,0	5,0
321	3,2	6,5	3,5	10,0	7,0	9,0	6,0
324	3,6	4,0	2,0	10,0	8,0	8,0	6,0
325	3,2	10,0	4,0	14,0	9,0	5,0	3,5
326	2,2	6,5	4,0	14,0	6,0	5,5	4,5
327	4,5	7,0	3,0	13,0	8,5	8,0	2,5
329	3,3	7,0	4,5	10,0	8,0	6,5	2,5
S	47,4	78,0	42,5	159,0	105,0	95,0	60,5
S/14	3,4	5,5	3,0	11,5	7,5	6,8	4,3
Länge/Breite		10 :	5,5	10 :	6,5	10 :	6,3
in Prozenten Länge		48 %		100 %		59 %	
Breite			40 %		100 %		57 %

Sporenbildung	keine	häufig	selten
Krankheitsbild	Läsionsstelle undeutlich abgegrenzt. Feine Risse in der Rinde, die jedoch nicht bis zum Kambium reichen.	Läsionsstelle meist eingefallen. Risse in der Rinde bis aufs Holz. Mycel sichtbar. Rund um die eingefallene Läsionsstelle oft stimuliertes Gewebe.	Läsionsstelle oft durch Kallus überwallt. Kleinere bis größere Risse in der Rinde bis ans Holz. Mycel oft sichtbar.

Versuch 3

Versuchsfrage: Gibt es Unterschiede in der Erkrankungsweise bei Verwundung verschiedenartiger Gewebe (Rinde, Kambium, Holz)?

Versuchsanordnung: 19 Kastanienbäume (Alter etwa sechs bis acht Jahre) wurden am Stamm an je drei Stellen mit einer *Endothia*-Kultur (drei Wochen alt) infiziert. Infektion: 31. März 1952; Kontrolle: 7. August 1952.

a) Obere Infektionsstelle: nur Rindenverwundung (äußere Rindenpartie);
b) mittlere Infektionsstelle: Kambium freigelegt;
c) untere Infektionsstelle: Verwundung bis ins Holz.

Versuchsergebnisse: Vier Monate nach der Infektion waren schon fünf Bäume nach einer heftigen Erkrankung eingegangen. Bei all diesen fünf konnte festgestellt werden, daß die Infektion b) dieses Eingehen verursachte, denn unterhalb dieser Läsion war das Holz noch frisch, oberhalb dagegen dürr. — Auch sämtliche anderen Versuchsbäume zeigten, obschon noch nicht abgestorben, dieselbe Tendenz, nämlich, daß die Infektionsstelle b) weitaus am stärksten erkrankt war. Durch das Ausmessen der Läsionen wurde es möglich, die Unterschiede in der Proliferation des Erregers in Zahlen zu erfassen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt.

Versuch 4

Versuchsfrage: Welches sind die jahreszeitlich bedingten Schwankungen in der Infektionsanfälligkeit von *Castanea sativa* gegenüber *Endothia parasitica?*

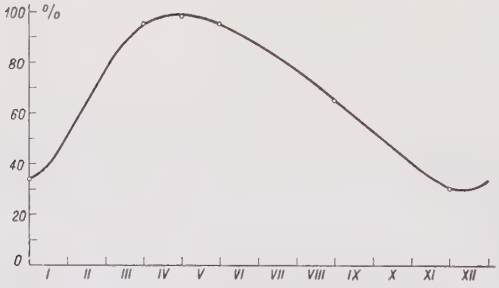


Abb. 6. Die jahreszeitlich bedingten Schwankungen in der Infektionsanfälligkeit von *Castanea sativa* gegenüber *Endothia parasitica.*
Abszisse: Jahreszeit, in welcher die Infektion erfolgte.
Ordinate: Infektionserfolg in Prozenten nach siebenmonatiger Inkubation

Versuchsanordnung: Zu verschiedenen Jahreszeiten wurde jedesmal eine größere Anzahl (je etwa 15 bis 20 Pflanzen) von möglichst gleich alten und gleich starken Kastanienpflanzen mit *Endothia* infiziert und jeweils sieben Monate nach erfolgter Infektion kontrolliert.

Versuchsergebnisse: Aus der Abb. 6 geht hervor, daß *Castanea sativa* im Frühjahr am anfälligsten für Infektionen durch *Endothia parasitica* ist.

Versuch 5

Versuchsfrage: Welches sind die jahreszeitlich bedingten Schwankungen in der Krankheitsanfälligkeit von Kastanien gegenüber *Endothia*

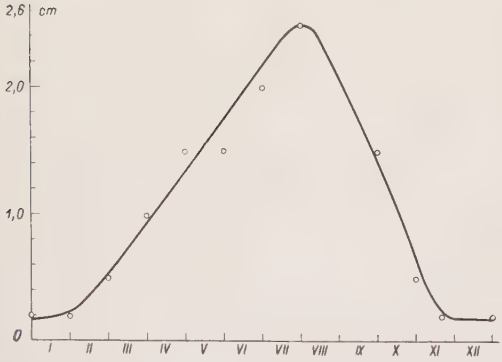


Abb. 7. Zuwachsschwankungen von *Endothia parasitica* an *Castanea sativa* im Laufe eines Jahres.

Abszisse: Jahreszeit, in der die Wachstumskontrollen durchgeführt wurden.

Ordinate: Zuwachs des Pilzes (Läsionslänge) unter der Rinde

parasitica, bzw. welches sind die Schwankungen in der Proliferation des Erregers?

Versuchsanordnung: Für diesen Versuch wurden periodische Kontrollen der Versuchsobjekte von Versuch 4 durchgeführt.

Versuchsergebnisse: Abb. 7 zeigt diese jahreszeitlich bedingten Schwankungen. Das Proliferationsoptimum liegt in der heißesten Jahreszeit.

Versuch 6

Versuchsfrage: Besteht ein Zusammenhang zwischen der Reaktionsweise (Hypertrophie — keine Hypertrophie) und der Läsionslänge?

Versuchsanordnung: Bäume, die im Frühjahr 1951 mit *Endothia parasitica* infiziert worden waren, wurden im Herbst 1952 kontrolliert, die entstandenen Läsionen ausgemessen und die Reaktionsweise festgestellt.

Versuchsergebnisse: Aus den Versuchsergebnissen war ersichtlich, daß keine Beziehung zwischen Läsionsgröße und Reaktionsweise besteht. In einigen Fällen reagierten die betreffenden Bäume an allen Infektionsstellen in ein und derselben Art und Weise; bei anderen Pflanzen konnte man jedoch die verschiedensten Reaktionen feststellen, so daß es schwierig ist, eine Gesetzmäßigkeit aus diesen Ergebnissen herauszulesen. Es sei hier beigefügt, daß, wie dies ein anderer Versuch zeigte, im Anfangsstadium der Krankheit eine solche Beziehung zwischen Proliferation und Reaktionsweise zu existieren scheint, die jedoch schon ziemlich bald verwischt wird. Vorerst dürften mit Hypertrophie verbundene Abwehrkräfte den Pilz leicht hemmen, doch gewinnt das pathogene Agens nach einer gewissen Zeit die Oberhand; die anfängliche Verzögerung wird dann meist wieder eingeholt.

C. Wachstum und Toxinbildung des Erregers in vitro

I. Die Wachstumsbedingungen

a) Die Nährmedien

Der Pilz läßt sich auf verschiedenen Nährmedien kultivieren. Tabelle 4 zeigt das Wachstum von *Endothia parasitica* auf verschiedenen flüssigen Substraten. Wie Versuche zeigten, eignete sich als fester Nährboden am besten Malzagar (Malzextrakt Wander 2 % + Agar 1,5 % + Leitungswasser).

Tabelle 4

Das Wachstum von *Endothia parasitica* auf verschiedenen flüssigen Nährmedien

Nährsubstrat	Wachstum + = gut − = kein	0 = Wachstum an der Oberfläche s = submerses Wachstum
KYG-Lösung = KNOPsche Lösung + 0,5 % Difco Yeast Extrakt + 2 % Glucose	+++++	0
MK-Lösung = KNOPsche Lösung + Extrakt von 1 % Malzkeimlingen + 2 % Glucose	+++	0—s
M-Lösung = Malzextrakt Wander 2 % + HOH	++	0—s
CW_4-Lösung = CZAPEK (+ Watteextrakt + 4 % Saccharose)	+	s
DP-Lösung = Difco-Dextrose-Pepton	+	0—s
R-Lösung = RAULINsche Nährlösung	+	s
F II-Lösung = FRIES II Nährlösung	—	
Ri_5-Lösung = RICHARDsche Nährlösung mit 5 % Saccharose	—	
Nährbouillon (Liebigbouillon 1 T + Fleischbouillon 1 T)	—	

b) Die Temperatur als Wachstumsfaktor

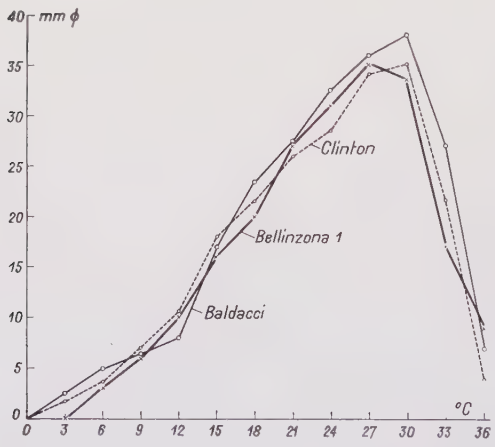


Abb. 8. Die Abhängigkeit des Wachstums von *Endothia parasitica* von der Temperatur.

Abszisse: Temperatur ° C.

Ordinate: Koloniedurchmesser in mm

65 Petrischalen wurden mit Malzagar je in der Mitte mit *Endothia parasitica* beimpft, einen Tag bei 24 ° C stehengelassen und anschließend immer je fünf Schalen im Thermostaten von 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 37 ° C gestellt. Nach drei Tagen Wachstum wurden die Durchmesser der Kolonien bestimmt. Das Ergebnis ist in Abb. 8 dargestellt. Dieser Versuch wurde gleichzeitig mit drei verschiedenen *Endothia parasitica*-„Stämmen" durchgeführt, einem Stamm tessinischer Provenienz (BELLINZONA 1), einem Stamm aus Italien (Stamm BALDACCI) und einem amerikanischen Stamm (CLINTON).

II. Die Toxinbildung

a) Testmethoden

Das hier zur Diskussion stehende *Endothia*-Toxin kann mit folgenden Tests nachgewiesen werden: dem Welketest, dem Bakterientest und Tests mit Pilzen. Für den Welketest hat sich unter den verschiedenen möglichen Testobjekten *Solanum Lycopersicum L.* am besten bewährt, unter den Bakterientests der Plattentest mit *Bacillus subtilis*.

Das Toxin wird in der vorliegenden Arbeit Diaporthin genannt. Die Zugehörigkeit der *Endothia parasitica* zu den *Diaporthales* (somit die nahe Verwandtschaft zu *Diaporthe*) und die ursprüngliche Bezeichnung des Erregers als *Diaporthe parasitica* (Murrill) rechtfertigen diese Bezeichnung des *Endothia*-Toxins.

Der Welketest mit *Solanum Lycopersicum* L.

Junge Tomatensprosse mit einem durchschnittlichen Gewicht von etwa 2 g werden in die verschiedenen Stufen einer Verdünnungsreihe des Toxins gestellt. (Diese Reihe besteht aus Verdünnungsstufen 1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 usw.) Die Pflanzen werden so lange in diesen Lösungen gelassen, bis 1 ml davon aufgenommen worden ist; hernach werden sie in Leitungswasser gestellt. 24 Stunden nach Beginn des Versuches werden die Pflanzen bonitiert. Das Toxin verursacht eine Stengelschädigung (Abb. 22), die bei höheren Konzentrationen sämtliche, bei schwächeren Konzentrationen nur die Basis-Partien erfaßt. Die geschädigten Partien sind in der Regel ziemlich scharf von den nichtgeschädigten abgegrenzt, so daß die kollabierten Anteile ohne Schwierigkeit in Prozenten ausgedrückt werden können. Als Schwellenwert für die Beurteilung wurde in allen Versuchen ganz willkürlich eine Schädigung des Stengels auf 30 % seiner Länge gewählt. Die getestete Lösung enthält so viele Toxineinheiten, wie der reziproke Wert der Verdünnung aufweist, die eine 30 %ige Schädigung hervorruft. Diese Anzahl Einheiten gelten für 1 ml aufgenommene Toxinlösung auf annähernd 2 g Pflanzenfrischgewicht. Aus Zweckmäßigkeitsgründen ist es angebracht, diesen Wert auf 1 g Pflanzenfrischgewicht zu beziehen, er muß also mit der Zahl, die das effektive Gewicht der getesteten Pflanze ausdrückt, multipliziert werden. Die Definition einer Toxineinheit wäre also folgende:

> 1 Diaporthin-Einheit = die Menge Toxinrohextrakt, welche in 1 ml Lösung von 1 g Pflanze (Frischgewicht) aufgenommen, an dieser Pflanze eine Schädigung des Stengels auf 30 % seiner Länge hervorruft.

Ist der Gewichtsanteil an Toxinrohextrakt einer Lösung bekannt, so wird die Aktivität ausgedrückt in der Dosis minima für eine 30 %ige Schädigung des Stengel für 1 kg Pflanzenfrischgewicht (aufgenommene Menge an Toxinrohextrakt je g Pflanze × 1000). Indem wir die Aktivität in Dosis minima ausdrücken, haben wir annähernde Vergleichsmöglichkeiten mit anderen Welketoxinen (Gäumann, Naef-Roth, Reusser, Ammann 1952). In Abb. 9 wird das Ergebnis verschiedener voneinander unabhängiger Versuche in einer Durchschnittskurve dargestellt; es ist eine angenäherte Standardkurve. Abb. 9

und 10 sind vergleichbar, da die Ergebnisse dieser Tests aus gleichzeitig durchgeführten Versuchen mit identischen Toxinlösungen erhalten wurden.

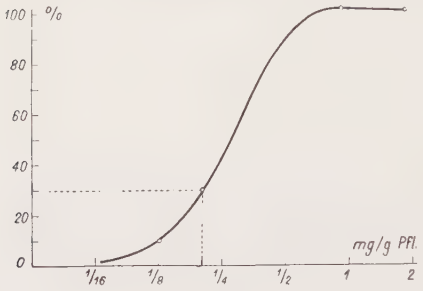


Abb. 9. Die Abhängigkeit der Aktivität des Diaporthins im Welketest von der Toxinkonzentration (angenäherte Standardkurve; vgl. Abb. 10).
Abszisse: mg Toxinrohextrakt, das von 1 g Pflanze (*Solanum lycopersicum*) aufgenommen wurde.
Ordinate: Stengelschädigung in Prozenten

Der Bakterientest

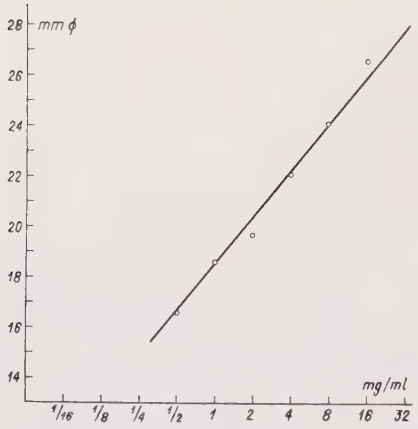


Abb. 10. Die Abhängigkeit der Aktivität des Diaporthins von dessen Konzentration im *Bacillus subtilis*-Plattentest.
Abszisse: mg Diaporthin-Rohextrakt im ml Testlösung.
Ordinate: Hemmung von *Bacillus subtilis* im Filterscheibchentest.

Das Diaporthin wirkt auch auf verschiedene Bakterien. Für Testzwecke hat sich der Plattentest mit *Bacillus subtilis* als der günstigste bewährt. Es ist ein Bakterientest, der für den Nachweis verschiedener Antibiotica eingeführt wurde. Hierzu werden Petrischalen mit einem speziellen Agar-Nährsubstrat, das die *Subtilis*-Sporen in gleichmäßiger Verteilung enthält, verwendet. Sporenmenge und Dicke der Suspensionsschicht u. a. sind für die Vergleichbarkeit der Testresultate wichtig. — Auf diese so vorbereiteten Schalen (die eine be-

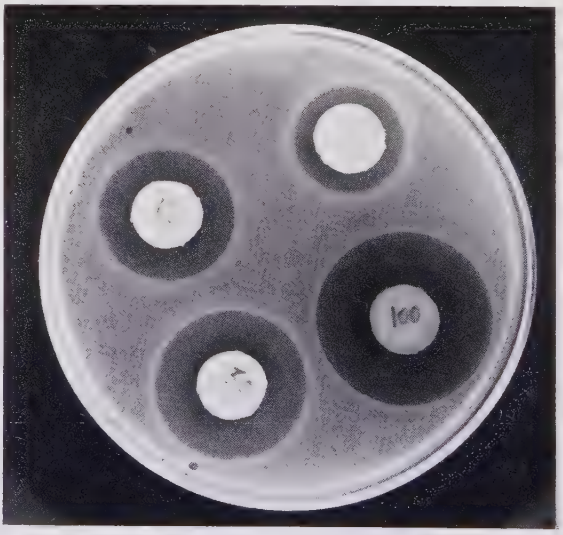


Abb. 11. Die Hemmung von *Bacillus subtilis* durch das Diaporthin. 2/3 nat. Größe

schränkte Zeit in Vorrat gehalten werden können) werden Filterscheibchen, die in der Toxinlösung getränkt worden waren, gelegt und hernach bei 37° C inkubiert. Der Durchmesser der entstandenen Hemmungszone wird sodann ausgemessen (Abb. 11). Um die Beziehung zwischen der Konzentration und der Aktivität im *Subtilis*-Test und im Welke-Test zu eruieren, wurden bei allen Welkeversuchen die verschiedenen Verdünnungen des Toxins auch mit diesem Bakterientest geprüft. Abb. 10 zeigt die so entstandene Standardkurve, die mit derjenigen von Abb. 9 vergleichbar ist.

Die beiden besprochenen Testmethoden haben sich für unseren Fall am besten bewährt. In der Folge sind noch zwei Tests mit Pilzen erwähnt:

Der *Ustilago zeae*-Sporenkeimungstest: Dieser Test wurde nach der üblichen Methode von Kern (Kobel 1951) durchgeführt. Ein Testergebnis ist in Abb. 12 dargestellt.

Der Mycelwachstumstest nach Grosser (1947) mit *Rhizoctonia solani* Kühn Stamm Grodsinsky. Ein entsprechendes Testergebnis zeigt Abb. 13.

Obwohl sich diese beiden Testmethoden mit Pilzen recht gut für den Nachweis des Diaporthins eignen, wurden sie aus arbeitstechnischen Gründen für die weiteren Versuche nicht verwendet.

b) Die Bedingungen für die Toxinbildung

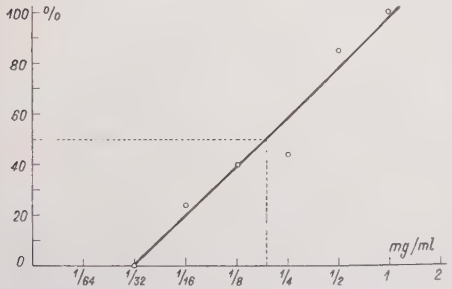


Abb. 12. Die Beziehung der Konzentration des Diaporthins zur Aktivität im *Ustilago zeae*-Sporenkeimungstest.

Abszisse: mg Diaporthin im ml Testlösung.

Ordinate: Keimungshemmung in Prozenten

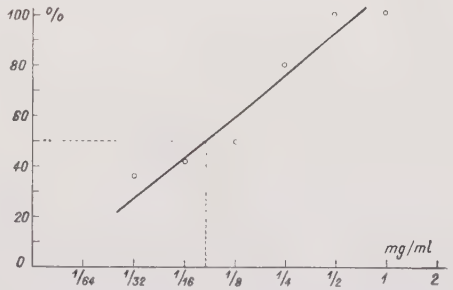


Abb. 13. Die Beziehung der Konzentration des Diaporthins zur Aktivität im Mycelwachstumstest.

Abszisse: mg Diaporthin im ml Testlösung.

Ordinate: Hemmung von *Rhizoctonia solani* Kühn Stamm Grodsinsky

1. Die Ernährungsbedingungen

In ersten Versuchen sollte geklärt werden, ob *Endothia parasitica* unter speziellen Bedingungen ein Welketoxin zu bilden vermag. Wir haben ja bei der Kultur von Pilzen auf künstlichen Nährmedien nie die natürlichen Bedingungen des Wirt-Erreger-Verhältnisses. Aus diesem Grunde haben die negativen Ergebnisse der Versuche, die diese Frage der Toxinbildung klären sollten, kein Gewicht.

Endothia parasitica wurde auf verschiedenen Nährlösungen (siehe Tabelle 4) kultiviert, und die verschiedenen Kulturfiltrate wurden auf eine eventuelle Toxinbildung hin geprüft (siehe Testmethoden). Es zeigte sich, daß der Pilz einzig (innerhalb der untersuchten Nährmedien) auf der KYG-Nährlösung (= KNOPsche Lösung + 0,5 % Difco Yeast Extrakt + 2 % Glucose) und auf der MK-Nährlösung (= KNOPsche Lösung + Extrakt von 1 % Malzkeimlingen + 2 % Glucose) Toxin in nachweisbaren Mengen zu bilden imstande ist. Allem Anschein nach braucht er spezielle Wuchsstoffe für dessen Bildung. Außer den beiden erwähnten Nährsubstraten besitzen die andern Lösungen diese Wirkstoffe nicht. Tabelle 5 illustriert die Toxinbildung auf KYG und MK (vgl. Tabelle 4). Das Toxin wird sowohl in Schüttel- als auch in Standkultur gebildet.

Tabelle 5

Vergleich zwischen der Toxinbildung auf KYG- und MK-Nährlösungen

Nährlösung	Aktivität des Kulturfiltrates nach 19 Tagen Kulturdauer im *Bacillus subtilis*-Plattentest. mm Hemmhofdurchmesser
KYG-Lösung (KNOPsche Lösung + 0,5 % Difco Yeast Extrakt + 2 % Glucose)	22,0
MK-Lösung (KNOPsche Lösung + Extrakt von 1 % Malzkeimlingen + 2 % Glucose)	18,0

Übrigens mag es hier interessant sein, Parallelen zu den Ergebnissen der Infektionsversuche, wie sie im vorhergehenden Kapitel beschrieben wurden, zu ziehen. Sind nicht auch dort ganz spezielle Ernährungsansprüche von *Endothia parasitica* vorhanden? Diese Ernährungsansprüche sind sowohl in vivo als auch in vitro eher fakultativ; der Pilz vermag auch auf ungünstigen Medien zu persistieren, ja sogar pathogen zu wirken, doch wird er auf günstigeren Nährsubstraten zu unvergleichlich stärkerem Wachstum und zur Toxinbildung angeregt, kurz, zu einem enorm wirksamen pathogenen Agens gefördert.

2. Die Kulturdauer

Versuchsfrage: Welches ist die beste Kulturzeit für eine maximale Toxinproduktion? Welche Kulturart (Schüttel- oder Standkultur) eignet sich für die Toxinproduktion am besten?

Versuchsanordnung: 100 Erlenmeyerkolben mit KYG-Lösung wurden mit *Endothia parasitica* beimpft, so daß nach der Beimpfung in 1 ml Nährlösung 20 000 Sporen vorhanden waren. Sämtliche Kolben wurden vorerst eineinhalb Tage bei 27 ° C auf der „Hin-und-her"-Schüttelmaschine (100 Schwingungen je Minute) zum Auskeimen gebracht, sodann 50 Kolben auf der rotierenden Schüttelmaschine (150 Drehungen je Minute) und die bleibenden 50 Kolben im gleichen Raum bei 21 ° C als Standkultur gehalten. Die

Kulturen wurden während 30 Tagen verschiedentlich kontrolliert und ausgetestet.

Versuchsergebnisse: Die Ergebnisse sind in Abb. 14 dargestellt. Verglichen mit den Ergebnissen von Abb. 15 und 16 ist zu bemerken, daß die Inokulummenge hier sehr günstig gewählt wurde, so daß ein Einfluß von dieser Seite nicht ins Gewicht fällt.

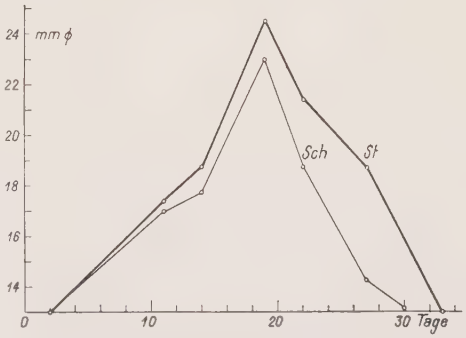


Abb. 14. Die Beziehung der Toxinproduktion von *Endothia parasitica* zur Kulturdauer (in Stand- [St] und in Schüttelkultur [Sch]), ausgedrückt in *Subtilis*-Aktivität des Kulturfiltrates.

Abszisse: Tage Kulturdauer.

Ordinate: Hemmung von *Bacillus subtilis* im Filterscheibchentest (mm)

3. Die Abhängigkeit der Toxinausbeute von der Inokulummenge

Versuchsfrage: Welches ist die günstigste Inokulummenge zur Erzielung einer maximalen Toxinausbeute?

Versuchsanordnung: Es wurden 100 Erlenmeyerkolben (500 ml), welche je 100 ml KYG-Lösung enthielten, mit verschiedenen Sporenmengen beimpft, so daß

20	Kolben	2 600 000
20	„	430 000
20	„	70 000
20	„	12 000
20	„	2 000

Sporen je ml beimpfter Nährlösung enthielten. Von jeder Stufe wurden zehn Kolben in Stand- und die restlichen in Schüttelkultur (rotierende Schüttelmaschine mit 150 Umdrehungen je Minute) bei 21 ° C inkubiert. Nach verschiedenen Tagen Kulturdauer wurde mittels des *Bacillus subtilis*-Plattentest kontrolliert.

Versuchsergebnisse: Die Ergebnisse sind in Abb. 15 (für Standkultur) und in Abb. 16 (für Schüttelkultur) gezeigt. In beiden Fällen wurden die besten Werte mit etwa 70 000 Sporen je ml beimpfter Nährlösung erzielt. Die Verschiedenheit der Kurvenbilder dieser beiden Kulturarten ist auffallend. Die Standkulturen zeigen eindeutig größere Ausgeglichenheit. Auch ist dort sehr deutlich sichtbar, daß mit zunehmender Inokulummenge das Optimum der Toxinproduktion in einem früheren Zeitpunkt der Kulturdauer erreicht wird. Bei der Schüttelkultur liegen die Verhältnisse etwas anders; dort verzögert sich die Toxinbildung (Toxinanreicherung) sowohl bei zu wenig als auch bei zuviel Inokulum, während bei der optimalen Sporenmenge eine ausgeprägte Spitze in der Diaporthinanreicherung in Erscheinung tritt.

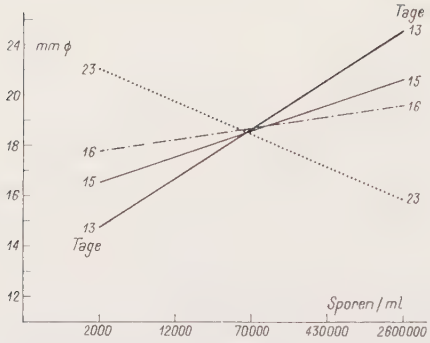


Abb. 15. Die Abhängigkeit der Toxinausbeute von der Inokulummenge, ausgedrückt in *Subtilis*-Aktivität des Kulturfiltrates der Standkultur.
Abszisse: Inokulummenge je ml beimpfter Nährlösung.
Ordinate: Hemmung von *Bacillus subtilis* im Filterscheibchentest

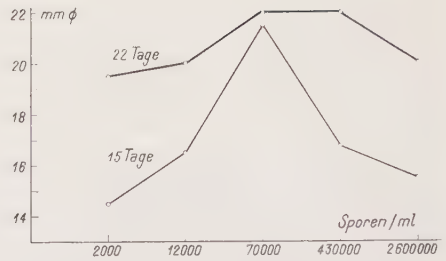


Abb. 16. Die Abhängigkeit der Toxinausbeute von der Inokulummenge, ausgedrückt in *Subtilis*-Aktivität des Kulturfiltrates der Schüttelkultur.
Abszisse: Inokulummenge je ml beimpfter Nährlösung.
Ordinate: Hemmung von *Bacillus subtilis* im Filterscheibchentest

4. Die Abhängigkeit der Toxinproduktion von der Temperatur

Versuchsanordnung: Die Toxinproduktion ist in den verschiedenen Wachstumsstadien unterschiedlich. In einem geschlossenen Ernährungssystem mit nichtkontinuierlichem Nährstoffnachschub werden die verschiedenen Nährelemente allmählich verbraucht. Das Wachstum des Pilzes ist so lange progressiv, bis eines der „Elemente" ins Minimum gerät; dann wird das Wachstum eingestellt, und später beginnt eine Autolyse. In einem solchen geschlossenen Ernährungssystem setzt die Toxinproduktion von *Endothia parasitica* am Ende der progressiven Wachstumsphase ein (Abb. 18). Kultiviert man *Endothia* bei verschiedenen Temperaturen, so ist zu einem bestimmten Zeitpunkt die Wachstumsphase in den einzelnen Temperaturstufen verschieden weit fortgeschritten, und dementsprechend wird auch die Toxinproduktion anders sein. Ihre Abhängigkeit von der Temperatur kann also auf diese Weise nicht gemessen werden, da wir ein verfälschtes Bild bekommen. Um trotzdem einige Aufschlüsse zu erhalten, wurde der Versuch folgendermaßen angeordnet:

220 Erlenmeyerkolben (500 ml) mit je 100 ml KYG-Nährlösung wurden mit *Endothia parasitica* beimpft, einen Tag bei 27 ° C auf der „Hin-und-her"-Schüttelmaschine (100 Schwingungen je Minute) geschüttelt. Hernach wurden 110 Kolben in die elf Thermostaten von 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 ° C verteilt. Die restlichen 110 Erlenmeyerkolben wurden in Standkultur noch weitere sechs Tage bei 27 ° C gehalten und erst dann in die erwähnten Thermostaten gestellt. Die erste 110-Kolben-Serie wurde als Reihe I und die zweite 110-Kolben-Serie als Reihe II bezeichnet. Bei Reihe II wuchs also der Pilz in optimaler Temperatur, bis sich ein kompaktes Oberflächenmycel gebildet hatte und die Toxinproduktion soeben einzusetzen begann. Erst

nach diesem Zeitpunkt wurde diese Reihe II in die Thermostaten verteilt. Reihe I wurde dagegen direkt nach der Beimpfung und nach dem Auskeimen der Sporen in die verschiedenen Temperaturen gebracht. Reihe I zeigt uns eine Produktionskurve, die wachstums- und temperaturbedingt ist, während die Kurve von Reihe II ein durch das Wachstum weniger verfälschtes Bild ergibt.

Die Aktivität wurde zu verschiedenen Zeitpunkten gemessen (*Bacillus subtilis*-Test), wobei man immer das Kulturfiltrat von fünf Kolben des gleichen Thermostaten verwendete (5 × 1 ml : Lösung zweimal getestet).

Versuchsergebnisse: Die Ergebnisse dieses Temperaturversuches sind aus Abb. 17 ersichtlich. Verbindet man die Optima der verschiedenen Kurven miteinander, so kann deutlich ihre Verschiebung bei zunehmender Kulturdauer nach den tieferen Temperaturen hin verfolgt werden. Reihe II zeigt dies ausgeprägter als Reihe I.

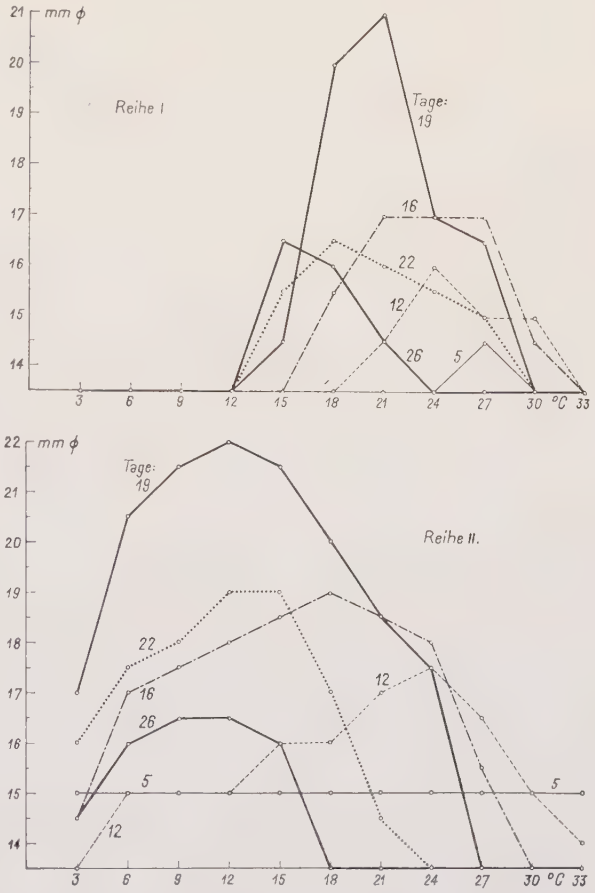


Abb. 17. Die Abhängigkeit der Toxinproduktion von der Temperatur. Die Verschiebung der Optima bei verschiedener Kulturdauer nach den tieferen Temperaturen hin kann besonders bei Reihe II gut verfolgt werden. Reihe I = Einwirkung der verschiedenen Temperaturen nach erfolgtem Auskeimen der *Endothia*-Sporen. Reihe II = Einwirkung der verschiedenen Temperaturen nach dem Zeitpunkt beginnender Toxinbildung.

Abszisse: Temperatur.

Ordinate: Hemmung von *Bacillus subtilis* im Filterscheibchentest. Die Kurven zeigen die Aktivität nach verschiedenen Inkubationszeiten

5. Die Beziehung zwischen pH, Wachstum und Toxinbildung

Versuchsanordnung: 90 Erlenmeyerkolben mit je 100 ml KYG-Nährlösung wurden mit *Endothia parasitica* beimpft und bei 21 ° C

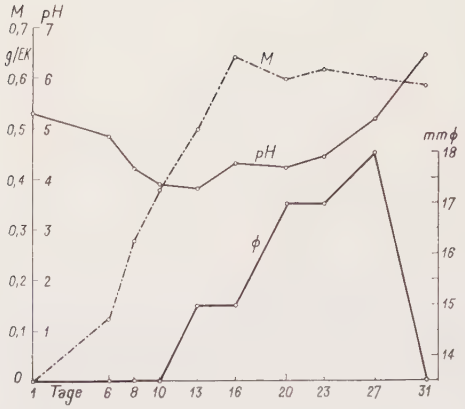


Abb. 18. Beziehungen zwischen pH, Mycelgewicht und Aktivität in *Endothia parasitica*-Kulturen.
Abszisse: Kulturdauer in Tagen.
Ordinate: Mycelgewicht (M), Wasserstoffionenkonzentration (pH), Aktivität im *Bacillus subtilis*-Test (ϕ)

kultiviert. Nach verschiedenen Inkubationszeiten wurden je zehn Erlenmeyerkolben geerntet, das pH, die Aktivität (im *Bacillus subtilis*-Test) und das Mycelgewicht (Trockengewicht) bestimmt. Für die Trockengewichtsbestimmung wurde das Mycel sämtlicher zehn Kolben zusammen in einem Wägegläschen bei 60° C vorgetrocknet und sodann bei 103° C während drei Stunden nachgetrocknet. Nach der Abkühlung im Exsiccator wurde gewogen und das Myceltrockengewicht eines Erlenmeyerkolbens bestimmt.

Versuchsergebnisse: Die Ergebnisse sind in Abb. 18 gezeigt. Ein viel besseres Bild über die Beziehungen zwischen der Wasserstoffionenkonzentration der Kulturlösung und deren Aktivität ergibt jedoch Abb. 19. Diese Ergebnisse stammen aus Versuchen mit demselben Material, mit dem die vorher besprochenen Temperaturversuche durchgeführt wurden.

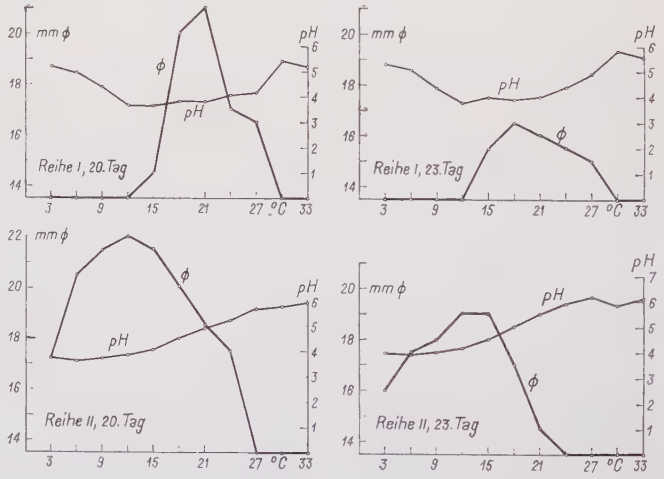


Abb. 19. Die Beziehung zwischen pH und Aktivität (*Bacillus subtilis*-Test) in Kulturlösungen eines Temperaturversuches. Bedeutung von Reihe I und II: siehe Abb. 17 und Text.
Abszisse: Temperatur.
Ordinate: Aktivität im *Bacillus subtilis*-Test (ϕ), Wasserstoffionenkonzentration (pH)

6. Die Toxinproduktion bei verschiedenen *Endothia*-Spezies

Versuchsanordnung: Da nicht sämtliche zur Verfügung stehenden *Endothia*-Stämme und -Arten in meinen Kulturen Sporen bildeten, muß dieser Versuch (da nicht mit den genau gleichen Inokulummengen gearbeitet werden konnte) rein qualitativ betrachtet werden (aus diesem Grunde

wird auch auf eine quantitative Angabe der Toxinproduktion verzichtet). — Verschiedene *Endothia parasitica*-Isolationen, und zudem *Endothia viridistroma* und *Endothia gyrosa*, wurden verwendet. Während der Kulturdauer wurde zu verschiedenen Zeitpunkten getestet (*Bacillus subtilis*-Plattentest).

Versuchsergebnisse: Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 gezeigt. *Endothia parasitica*-Isolationen Clinton und Heald sind beides Stämme, deren Vitalität durch langjährige künstliche Kultur stark herabgesetzt ist. Wahrscheinlich ist deshalb auch ihre Toxinproduktion geringer.

Endothia viridistroma und *Endothia gyrosa* bildeten in diesen Versuchen kein Toxin. Ein Beweis für diesen negativen Befund müßte allerdings erst noch mit längeren Versuchen erbracht werden. Bis jetzt bleibt die Fähigkeit zur Diaporthinbildung auf *Endothia parasitica* beschränkt.

Tabelle 6

Die Toxinproduktion bei verschiedenen *Endothia*-Spezies

Verwendete *Endothia*-Spezies	Toxinproduktion — = keine Aktivität + = Aktivität vorhanden
Endothia viridistroma Wehmeyer	—
Endothia gyrosa (Schw.) Fr.	
Endothia parasitica (Murr.) And. (Isolation Clinton)	—
Endothia parasitica (Murr.) And. (Isolation Heald)	+
Endothia parasitica (Murr.) And. (Isolation Baldacci, Pavia)	+
Endothia parasitica (Murr.) And. (Isolation 2 Soresina)	+ +
Endothia parasitica (Murr.) And. (Isolation 3 Corcapolo)	+ +
Endothia parasitica (Murr.) And. (Isolation von *Quercus*, Neggio)	+ +
Endothia parasitica (Murr.) And. (Isolation von *Fagus silvatica* L.)	+ +

c) Die Isolierung des Toxins

Das Toxin kann auf verschiedene Weise aus dem Kulturfiltrat extrahiert werden. Es läßt sich beispielsweise mit verschiedenen Lösungsmitteln wie Benzol, Aether, Chloroform oder Essigester mit dem Scheidetrichter ausschütteln. Nach den bis jetzt vorliegenden Erfahrungen hat sich aber vor allem die Extraktion mit Aktivkohle bewährt. Das Kulturfiltrat wird mit 1 % Aktivkohle (Nuchar) während 15 Minuten mit einem Vibrator stark durchmischt. Nach erfolgtem Abfiltrieren wird die Kohle in einem Becherglas mit Methanol versetzt, 12 Stunden bei 15 ° C stehengelassen und sodann das Methanoleluat abfiltriert. Nach mehrmalig wiederholtem Eluieren wird die Kohle verworfen. Sämtliche Methanoleluate werden sodann zusammen in einem Rundkolben unter Vakuum vollständig eingedickt. Der Rückstand

wird gewogen und in H_2O dest. gelöst. Diese wäßrige Lösung mit bekannter Toxinrohextrakt-Menge kann direkt zum Testen verwendet werden. Empfehlenswert ist, für Tests immer frische Lösungen zu verwenden.

Dieser erste Rohextrakt kann nun weitergereinigt werden. Auf den speziell chemischen Teil der Arbeiten mit Diaporthin möchte ich nicht näher eingehen. Auf Grund des Welketests und des *Bacillus subtilis*-Plattentests führt Herr Dr. A. BOLLER unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. PL. A. PLATTNER (Hoffmann-La Roche, Basel) die weitere chemische Aufarbeitung dieses Stoffes aus; worüber in einer späteren Publikation berichtet werden wird.

d) Eigenschaften des Toxinrohextraktes

1. Der Einfluß von Hitzeeinwirkung und pH-Veränderung auf die Aktivität des Toxinrohextraktes

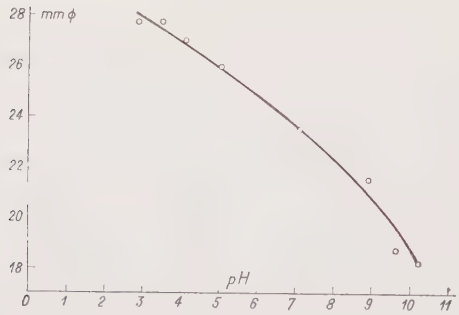


Abb. 20. Der Einfluß von pH-Veränderungen auf die Aktivität des Diaporthins im *Bacillus subtilis*-Plattentest.
Abszisse: Wasserstoffionenkonzentration.
Ordinate: Hemmhofdurchmesser im *Bacillus subtilis*-Test

Hitzeeinwirkung: Eine wäßrige Toxinlösung wurde im Wasserbad während 15 Minuten gekocht und dann mit dem *Subtilis*-Test geprüft. Diese Behandlung bewirkte keinen Aktivitätsverlust.

pH-Veränderung: Die Wasserstoffionenkonzentration einer wässerigen Toxinlösung wurde durch Zugabe von KOH sukzessive verändert. Nach jeder pH-Messung mit dem Polymetron-Glaselektrodengerät wurden Proben für den *Bacillus subtilis*-Test entnommen. Die Ergebnisse sind aus Abb. 20 ersichtlich.

2. Die Löslichkeit des Toxins

Wie schon erwähnt, eignen sich verschiedene organische Lösungsmittel sehr gut für diesen Stoff. So Benzol, Aether, Essigester, Chloroform, Butanol, Aethanol, Methanol, Aceton. In Petrolaether ist das Diaporthin nicht löslich; am selektivsten löst Benzol.

Für die biologischen Versuche erhält die Löslichkeitsfrage ihre besondere Bedeutung, da nur wäßrige Lösungen für die Tests gebraucht werden. Das Toxin ist unmittelbar nach dem Eluieren aus dem eingedickten Zustande sehr gut in Wasser überzuführen. Für unsere biologischen Versuche haben wir also vorderhand noch keine Löslichkeitsschwierigkeiten.

e) Die biologische Wirkung des Toxinrohextraktes

1. Die Wirkung auf verschiedene Bakterien und Pilze

Nachdem es sich gezeigt hatte, daß das Diaporthin *Bacillus subtilis* stark hemmt, wurde versucht, durch ein sogenanntes Bakterienspektrum die Wirkung auf verschiedene andere Bakterien kennenzulernen.

Versuchsanordnung: Filterpapierstreifen von 8 cm Länge und 1 cm Breite wurden mit der gleichen Menge Diaporthin getränkt und in die Mitte der Platten mit Nähragar gelegt. Hernach wurden die in Abb. 21 aufgeführten Testbakterien mit einer Öse senkrecht zum Filterstreifen gestrichen und bei 37 ° C inkubiert.

Versuchsergebnisse: Darstellung Abb. 21 zeigt, daß alle verwendeten grampositiven Bakterien gehemmt, alle gramnegativen aber im Wachstum nicht gestört wurden. *Candida vulgaris* wurde ebenfalls nicht gehemmt.

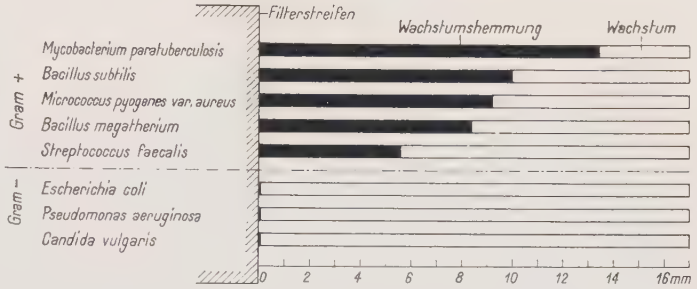


Abb. 21. Die antibiotische Wirkung des Diaporthins auf verschiedene Bakterien

2. Die Wirkung des Diaporthins auf höhere Pflanzen

Die Wirkung des Toxins kann am besten an Hand eines Welketests mit Tomatenpflanzen, wie er im Kapitel „Testmethoden" beschrieben wurde, illustriert werden. Für diesen Test verwenden wir sieben Verdünnungsstufen mit bekannten Toxinrohextraktmengen je ml Lösung. In Tabelle 7 sind die Ergebnisse dieses Tests dargestellt.

Tabelle 7

Ein Beispiel der Wirkung des Diaporthins in den verschiedenen Stufen eines Welketests mit *Solanum Lycopersicum* L.

Teststufe	Aufgenommene Toxinmenge je g Pflanze in mg	Wirkung nach 24 Stunden	
1	4	Stengel und Blätter total gewelkt	
2	2	Stengel und Blätter total gewelkt	
3	1	Stengel und Blätter total gewelkt	
4	1/2	Stengel zu 90 % kollabiert (Abb. 22)	Blätter vollständig normal aussehend, frisch und turgeszent. Scharfe Abgrenzung zwischen nichtgeschädigtem und kollabiertem Stengelteil. (Geschädigter Teil in der Regel an der Basis, nicht geschädigter Teil blattwärts.)
5	1/4	Stengel zu 50 % kollabiert	
6	1/8	Stengel zu 10 % kollabiert	
7	1/16	keine Wirkung	

Nach weiteren zwei Tagen beginnt auch eine Schädigung an den Blättern sichtbar zu werden. Eine genauere Betrachtung zeigt oft eine nachträgliche dunkle Verfärbung der Blattäderchen (Abb. 23), ein Zeichen dafür, daß sich das Toxin bis in diese Zonen verteilt hat. Die Toxinanreicherung war aber hier noch zu gering, um sofort einen sichtbaren Schaden zu verursachen.

Abb. 22. Die Wirkung des Diaporthins im Welketest mit Tomatenpflanzen.
(Dieses Beispiel entspricht der Teststufe 4 in Tabelle 7)
(Aufnahme: Photographisches Institut, ETH, Zürich)

Ähnliche nachträgliche Verfärbungserscheinungen kann man auch in Welkeversuchen mit älteren Tomatensprossen feststellen. Dort kollabieren die verholzten Stengelpartien nach erfolgter Intoxikation nicht in dieser totalen Weise. Eine gewisse Stütz- und Trägerfunktion bleibt zudem noch erhalten. Festzustellen sind in diesem Falle mehr oder weniger starke Rillen (Abb. 24), welche sich ebenfalls nachträglich verfärben.

Die Intoxikationssymptome des Diaporthins und des Patulins sind sehr ähnlich. In beiden Fällen können Kollaps, Rillenbildung und Blattäderchen-

verfärbung an vergifteten Pflanzen beobachtet werden (Miescher 1950). Das Diaporthin unterscheidet sich vom Patulin jedoch ganz wesentlich in vielen chemischen Eigenschaften sowie auch in der biologischen Wirkung. Auf die Verschiedenheit der beiden Toxine möchte ich bei anderer Gelegenheit später näher eingehen.

Abb. 23. Dunkel verfärbte Blattäderchen eines Blattes von *Solanum Lycopersicum* L. als nachträglich in Erscheinung tretendes Symptom bei Intoxikation mit Diaporthin. Dieses Bild gleicht sehr stark den Erscheinungen bei Patulinvergiftung. Nat. Größe

Abb. 24. Rillenbildung an einem Stengel eines älteren Tomatensprosses nach der Intoxikation mit Diaporthin. Ähnlich aussehende Rillenbildungen sind auch bei Patulinvergiftung bekannt. 2/3 nat. Gr.

Abb. 25. Intoxikationssymptome des Diaporthins an einem Blatt von *Castanea sativa* Miller. (Verfärbung der Blattäderchen mit Nekrosen.) 2/3 nat. Größe

Die Wirkung des Diaporthins auf Kastanienpflanzen ist im großen gesehen identisch mit dessen Wirkung auf Tomatenpflanzen. Bei verholzten Pflanzen kann jedoch der ganze Vergiftungsvorgang im Stengel nicht in dieser Weise verfolgt werden. Als einzige Symptome sehen wir vorerst die Wirkung auf die Blätter. Diese zeigen (entsprechend den Versuchen mit Tomaten) ein rasches Welken des Blattes oder auch hier eine nachträgliche Verfärbung der Blattäderchen mit mehr oder weniger rasch sich ausdehnenden Blattnekrosen (Abb. 25). Die Inkubationszeit des Toxins, d. h. die Zeit, die zwischen der

Applikation des Giftstoffes und dem Auftreten der ersten Symptome liegt, ist bei Kastanienpflanzen bedeutend länger als bei Tomatenpflanzen.

Ein Versuch sei hier noch erwähnt, der gewisse Anhaltspunkte über die mengenmäßige Verteilung des Diaporthins in vergifteten Pflanzen geben kann. Hier wurden Tomatensprosse von verschiedenen Größen verwendet. Nach erfolgter Giftaufnahme und nach dem Auftreten der Welkesymptome wurden Stengelstücke an verschiedenen Stellen aus der betreffenden Pflanze herausgeschnitten und der Länge nach halbiert. Diese Fragmente wurden sodann auf *Bacillus subtilis*-Platten gelegt. Nach dem Inkubieren der Platten

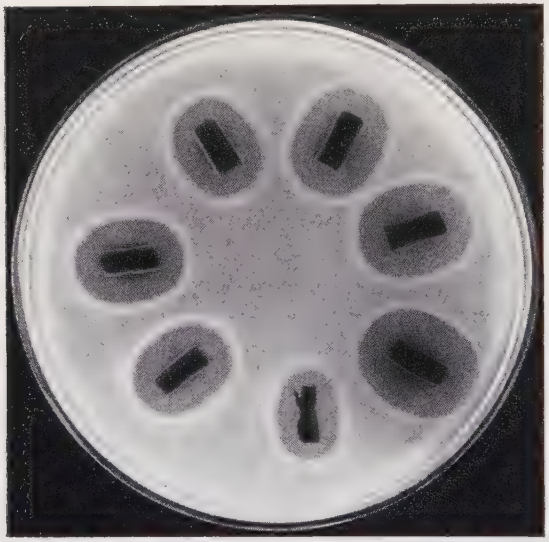
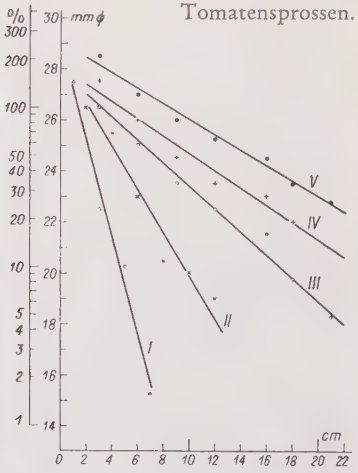


Abb. 26. Der Nachweis des Diaporthins in der gewelkten Pflanze. Stengelfragmente auf *Bacillus subtilis*-Platten mit den entstandenen Hemmungszonen. $^2/_3$ nat. Größe

(Aufn.: Photographisches Institut der ETH, Zürich)

Abb. 27. Die Toxinverteilung in 5 verschieden großen (I = 7 cm lang; II = 14 cm lang; III = 22 cm lang; IV = 25 cm lang; V = 25 cm lang), gewelkten Tomatensprossen.



Abszisse: cm Abstand des Stengelfragmentes von der Basis.

Ordinate: Hemmhofdurchmesser in mm (*Bacillus subtilis*-Test); Toxinmenge in Prozenten

bei 37° C wurden die Hemmungswerte ermittelt (Abb. 26). Durch Umrechnung ist es möglich, einen annähernden Vergleich mit den Werten aus der Standardkurve (Abb. 10) zu ziehen und die Toxinmengen zu ermitteln. Auf diese Weise konnte das prozentuale Absinken des Toxinspiegels in der Pflanze ermittelt werden. In Abb. 27 sind die Toxinverteilungskurven von fünf verschieden großen Tomatensprossen dargestellt. (I: die kleinste Pflanze, etwa 7 cm lang; V: die größte Pflanze, etwa 25 cm lang.)

Ähnliche Versuche über die Toxinverteilung wurden auch mit gewelkten Kastanien- und *Quercus*-Zweigen durchgeführt. Die Ergebnisse sind im großen ganzen gleich wie bei den Versuchen mit Tomatensprossen.

D. Zusammenfassung

1. Es wird gezeigt, daß *Fagus silvatica* L. zum Wirtskreis von *Endothia parasitica* gehört.

2. Es besteht (wie an achtjährigen Kastanienpflanzen festgestellt werden konnte) keine Beziehung zwischen Alter bzw. Dicke eines infizierten Astes und der Läsionsgröße.

3. Das Alter des Inokulums spielt für das Gelingen der Infektion und besonders für die Erkrankung eine maßgebende Rolle. Mit zunehmendem Alter der Pilzkultur (auf Malzagar) wurde eine deutliche Virulenzverminderung festgestellt.

4. Es konnte gezeigt werden, daß ganz besonders Verletzungen, die bis aufs Kambium und in die inneren Rindenpartien reichen, für die Erkrankung weitaus am günstigsten sind. Dies ist besonders bei Quetschwunden (Hagelwunden, Schlagwunden usw.) der Fall.

5. In der Infektionsanfälligkeit der Kastanien gegenüber *Endothia parasitica* sind auffällige jahreszeitlich bedingte Schwankungen festzustellen. Am günstigsten für die Infektion scheint die Zeit während und unmittelbar nach dem Austreiben der Wirtspflanze zu sein. Am ungünstigsten ist der Spätherbst und Winter.

6. Auch in der Krankheitsanfälligkeit der Kastanien gegenüber *Endothia parasitica* respektive in der Proliferation des Erregers unter der Kastanienrinde sind jahreszeitlich bedingte Schwankungen zu beobachten. Das Zuwachsoptimum liegt in den heißesten Monaten des Jahres.

7. Eine Beziehung zwischen der Reaktionsweise der Kastanienpflanzen und der jeweiligen Läsionsgröße konnte nicht festgestellt werden.

8. *Endothia parasitica* (Murr.) And. ist imstande, ein Toxin zu bilden, das in der vorliegenden Arbeit D i a p o r t h i n genannt wird.

9. Die Bedingungen der Toxinbildung werden erläutert.

10. Eine Methode zur Isolierung des Diaporthins wird beschrieben.

11. Einige Versuche illustrieren die Eigenschaften des Toxinrohextraktes.

12. Die biologische Wirkung des Toxins auf Bakterien, Pilze und höhere Pflanzen wird beschrieben. Die fehlende Spezialisierung in der Wirkung gegenüber verschiedenen Pflanzen (Bakterien, Pilze und verschiedene höhere Pflanzen sprechen auf das Gift an) ermöglicht uns die Anwendung verschiedenster Tests für den Nachweis des Toxins.

E. Literaturverzeichnis

Anderson, P. J. and Anderson, H. W., 1912: *Endothia virginiana.* Phytopath. **2**, 261—262.

— — and Babcock, D. C., 1913: Field studies on the dissemination and growth of the chestnut-blight fungus. Penn. Chest. Bl. Com. Bul. **3**, 1—32.

— — and Rankin, W. H., 1914: *Endothia* canker of chestnut. N. Y. Cornell Agr. Exp. Sta. Bull. 347, 531—618.

Biraghi, A., 1950: Nuovi ospiti di *Endiotha parasitica.* Ann. Sper. Agr. N. S. IV, **1**, 109—118.

Clapper, Russel, B.; Gravatt, G. F. and Stout, Domald, C., 1946: *Endothia* canker on Post Oak. Plant Disease Reporter **30**, 10.

Clinton, G. P., 1912: The relationships of the chestnut blight fungus. Science **36**, 907—914.

Darpoux, H., 1949: Le chancre du chataigner causé par *Endothia parasitica.* Institut national de la recherche agronomique. Document phytosanitaire 7.

Gäumann, E., 1949: Die Pilze. Verlag Birkhäuser, Basel, 382 S.

— —, Naef-Roth, St., Reusser, P., Ammann, A., 1952: Über den Einfluß einiger Welketoxine und Antibiotica auf die osmotischen Eigenschaften pflanzlicher Zellen. Phytopath. Ztschr. **19**, 160—220.

Gravatt, G. F., 1949: Unasylva III, 1.

Graves, A. H., 1950: Relative blight resistance in species and hybrids of *Castanea.* Phytopath. **40**, 12, 1125—1131.

Grosser, A. und Friedrich, W., 1947: Eine Testmethode zur Bestimmung von Pilzhemmstoffen. Ztschr. f. Natur. **2**, 425—427.

Heald, F. D., 1943: Introduction to plant pathology. New York, 579 S.

Kobel, F., 1951: Untersuchungen über toxische Stoffwechselprodukte von *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. Phytopath. Ztschr. **18**, 157—195.

Miescher, G., 1950: Über die Wirkungsweise von Patulin auf höhere Pflanzen, insbesondere auf *Solanum Lycopersicum* L. Phytopath. Ztschr. **16**, 369—397.

Murrill, W. A., 1906: A new chestnut disease. Torreya **6**, 186—189.

Nienstaedt, H., 1953: Tannin as a factor in the resistance of chestnut, *Castanea* spp., to the chestnut blight fungus, *Endothia parasitica.* Phytopath. **43**, 1, 32—38.

Rehm, H., 1907: *Ascomycetes* exs. Fasc. 39. Ann. myc. **5**, 210.

Shear, C. L., Stevens, N. E. and Tiller, R. J., 1917: *Endothia parasitica* and related species. U. S. Dept. Agr. Bull. 380, 88 pp.

Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. Hans Braun

Untersuchungen über *Alternaria solani*, den Hartfäule-Erreger der Kartoffel und Fruchtfäule-Erreger der Tomate

Von

Gertrud Teschner

Mit 15 Abbildungen

I. Einleitung

Die Dürrfleckenkrankheit der Kartoffel hat infolge ihrer starken Ausbreitung zunächst in Amerika zu intensiverer Beobachtung und Erforschung ihres Erregers *Alternaria porri* (Ell.) Saw. f. spec. *solani* (E. et M.) Neerg. syn. *A. solani* (E. et M.) Jones et Grout und aller sich daraus ergebenden Probleme geführt. Angaben über die Geschichte der Krankheit, ihre geographische Verbreitung, die durch sie verursachten Schäden und ihren Wirtspflanzenbereich sind in der Arbeit von Klaus (1941) und in der *Alternaria*-Monographie von Neergaard (1945) erschienen. In Europa blieb die Krankheit bis zu ihrer Entdeckung auf den Knollen in Holland (Goossens 1933) verhältnismäßig unbeachtet. Die Untersuchungen von Klaus hatten gezeigt, daß die stärkste Sporenbildung des Pilzes, als Voraussetzung für eine epidemische Entwicklung der Krankheit, bei 26 ° C und 100 % rel. Luftfeuchtigkeit erfolgt, unter Bedingungen also, die in unseren Anbaugebieten normalerweise selten anzutreffen sind. Trotz der begründeten Annahme einer geringeren Ausbreitung in Europa ist die Krankheit immer wieder zum Gegenstand lokaler Untersuchungen gemacht worden, so in Dänemark in neuerer Zeit (Johansen 1948) und in der Tschechoslowakei (Zacha 1948 und Zadina 1949). Auch im Institut für Pflanzenkrankheiten in Bonn führten vermehrte Anfragen nach der Bedeutung des Erregers zur Wiederaufnahme und Bearbeitung von Einzelfragen.

Bonde (1927, 1929) hatte als erster darauf hingewiesen, daß eine Rassenbildung bei *A. solani* nicht unmöglich sei. Seine Untersuchungen ließen be-

merkenswerte Unterschiede unter seinen Herkünften, soweit sie sich auf Blatt- und Knollenstämme ausdehnten, erkennen. Über ein etwa bestehendes Pathogenitätsverhältnis zu Blatt- und Fruchtstämmen der Tomate war nichts bekannt. Hier führte die Entdeckung des Pilzes in der Umgebung von Bonn als eines Massensporenbildners auf der Tomate (Frucht) schließlich zur Einbeziehung auch dieser „Erregergruppe" zu umfangreicheren Pathogenitätsvergleichen. Meines Wissens ist das Auftreten von *A. solani* als eines Fruchtfäuleerregers im Umfange wie in den Massenanbauquartieren der Kölner Bucht bisher nur aus Nordamerika bekanntgeworden (McWHORTER 1927).

Zu klären war, inwieweit bei *A. solani* mit biologischer Spezialisierung gerechnet werden kann und die Massensporenbildung auf der Tomate eine Gefahr für den Kartoffelanbau bildet.

II. Krankheitssymptome

1. Kartoffel

a) Dürrflecken am Laube

Das erste Anzeichen der Krankheit beobachtet man am Laub. Die Blattflecken sind außerordentlich einfach und prägnant gestaltet, so daß sie die richtige Diagnose sehr erleichtern. Abb. 1 läßt deutlich die Beschaffenheit der Flecken erkennen. Häufig ist die jüngste Wachstumszone stark aufgehellt. Während man als Frühsymptom der Krankheit auf einem einzigen Fiederblättchen nur einen einzigen braunen Fleck finden kann, erscheint dasselbe zuletzt wie mit dürren Flecken gesprenkelt (Abb. 2). Eine Entblätterung, wie sie nach FOLSOM und BONDE (1925) unter subtropischen Verhältnissen vorkommen soll, habe ich nie beobachtet. Der Name „Dürrflecken", wie ihn SORAUER (1896) zuerst geprägt hat, dürfte dieser Blattkrankheit am ehesten entsprechen.

Abb. 1. Typischer Dürrfleck auf Kartoffelblatt

In der Literatur ist mehrfach der Name „Dörrfleckenkrankheit" aufgetaucht (WOLLENWEBER 1932, KLAUS 1941); es ist jedoch nicht einzusehen, weshalb der ältere Name von SORAUER keine Gültigkeit mehr haben sollte, um so weniger, als die Bezeichnung „Dörrfleckenkrankheit" für die Mangan-Mangelkrankheit des Hafers eingeführt worden ist.

b) Knollenfäule

Ihr erstes Stadium kurz nach der Ernte ist schwer definierbar, weil es in kleinen dunklen Verfärbungen der Schale zutage tritt, die nicht spezifisch sind. Meist entzieht es sich auch dem Beobachter, weil es durch anhaftende Erdteilchen überdeckt ist. Doch schon nach der ersten Lagerung, oftmals noch vor dem Transport, vergrößern sich die Flecken, wenn auch nur langsam (Gratz und Bonde 1927)[1]). Das befallene Gewebe vertrocknet, und die Flecken sinken ein. Wärmezutritt beschleunigt diesen Vorgang. An der Grenze des Fleckens erscheint der Rand des gesunden Knollenfleisches nunmehr erhaben und ragt später nicht selten wulstartig etwas über den eingesunkenen Flecken herüber. Von diesem Zeitpunkt an ist die Diagnose erst möglich. Die Form der Flecken ist unregelmäßig, wenn sie auch zunächst rundlich erscheint, ihre Größe ist unterschiedlich, meist kleiner als die Hälfte der Knollenoberfläche. Abb. 3 stellt eine Knolle der Sorte Erstling dar, an der das soeben beschriebene Symptom nach halbjähriger Lagerzeit unverändert erhalten geblieben ist. Im Gegensatz zu anderen Fäulen, insbesondere der *Fusarium*-Fäule, bleibt das Gewebe auffällig hart.

Abb. 2. Dürrfleckenbefall an älteren Kartoffelblättern der Sorte Oberarnbacher Frühe vom 5. August 1949

Nur sehr alte oder sehr junge Flecken bilden hiervon eine Ausnahme. Der normale Faulfleck ist von außergewöhnlich harter Beschaffenheit und gibt bei kräftigem Daumdruck nicht nach. „Die Knolle ist so hart, daß man sie kaum mit einem Messer durchschneiden kann" (Roth 1936).

Neben diesem Symptom ist das Fäulnisbild im Innern der Knolle für die Diagnose von Wichtigkeit. Schneidet man eine kranke Knolle senkrecht durch den Fleck,

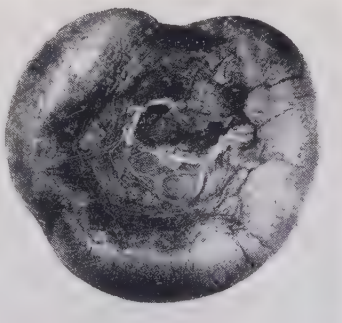


Abb. 3. Typische Hartfäule an alter Kartoffelknolle der Sorte Erstling

[1]) „Anscheinend stoppt der Pilz, nachdem er eine gewisse Ausbreitung hinter sich hat, sein Wachstum ab und dringt nach dieser Etappe nur sehr langsam vorwärts" (Folsom und Bonde 1925).

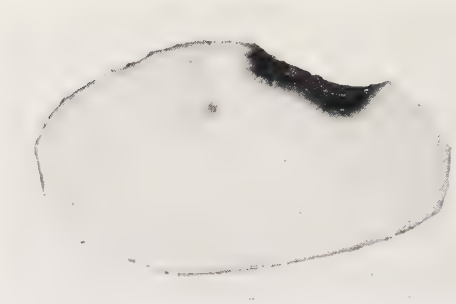


Abb. 4. Hartfaule Knolle der Sorte Erstling nach senkrecht durch den Faulfleck geführtem Schnitt

muß sich stets folgendes Bild ergeben (Abb. 4). Das Faulgewebe erscheint muldenartig vertieft, selten über 5 bis 7 mm tief, und ist durch eine schmale, glasig erscheinende Zone zum gesunden Parenchym abgegrenzt. Da die Härte des Faulfleckes ein zuverlässiges Diagnostikum ist, schlage ich vor, die *Alternaria*-Knollenfäule nunmehr „Hartfäule" zu nennen.

2. Tomate

a) Dürrflecken am Laube

Die Krankheit des Tomatenblattes ist der des Kartoffelblattes überaus ähnlich. Abb. 5 läßt die gleichen konzentrischen Ringe erkennen. Auffällig gelb gegen das grüne gesunde Blattgewebe ist die nähere Umgebung junger Flecken. Die Krankheit breitet sich wie bei der Kartoffel von unten nach oben aus und erfaßt schließlich die ganze Pflanze bis auf die kurzen Achselsprosse der gekappten Haupttriebe, die grün bleiben. Da die Flecken gewöhnlich sehr zahlreich auftreten, rollt sich das gebräunte Blatt im letzten Stadium der Erkrankung zusammen und hängt nach unten. Dadurch erhält die Pflanze ein verdorrtes Aussehen.

Auch hier ist der Name „Dürrflecken" dem in der Literatur aufgetauchten Namen „Dörrflecken" (RICHTER 1943, LÜSTNER 1947) vorzuziehen.

Abb. 5. Typischer Dürrfleck auf Tomatenblatt (vgl. Abb. 1)

b) Fruchtfäule

Das erste Stadium der Tomatenfruchtfäule gleicht nicht selten einer kleinen hellbraunen Sternzacke, die vom kreisförmigen Fruchtboden (dem Sternzentrum) ausgeht und mit der Spitze nach außen weist. Der ursprünglich unsichtbare Riß als Eingangspforte ist in der Kelchgrube entstanden und wird später durch die Fäule erweitert. In der Regel breitet sich diese konzentrisch um den Kelch herum aus (Abb. 6).

Sie kann an dieser Stelle aber auch einseitig erscheinen. Außerordentlich charakteristisch sind die tiefschwarzen samtigen Sporenlager des Pilzes, die nahezu den ganzen, später leicht eingesunkenen Fleck bedecken und sehr bald nach der Infektion hervorbrechen.

Sobald der Pilz die Gefäßstränge zerstört hat, wird die Frucht frühzeitig vom Stiel abgetrennt und fällt zu Boden (fruit-drop bei McWhorter 1927). Der Kelch bleibt meistens in der Faulstelle sitzen.

Bei reifen Früchten faltet sich die offenbar sehr zähe, zu weit gewordene Oberhaut, besonders nach der Peripherie des Fleckens zu, ziehharmonikaartig um den Infektionskern herum.

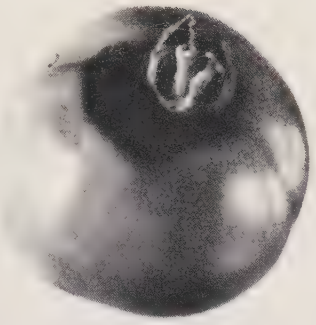


Abb. 6. Kelchendfäule der Tomate (frühes Stadium)

Bei grünen Früchten ist diese Erscheinung nicht so ausgeprägt; der Fleck fühlt sich sogar häufig hart an, erscheint aber auch hier, wie bei reifen Früchten und wie bei der Kartoffel, etwas eingesunken und zeigt einen mehr oder weniger erhabenen Rand (hard-rot bei McWhorter).

Das Fruchtfleisch ist tief gebräunt, die Samenanlagen mit den Samen sind befallen. Seitlich entstandene Faulflecken treten selten auf.

Raabes erste Beobachtungen einer Tomatenfruchtfäule durch *A. solani* (Tübingen, 1938) decken sich mit den meinigen: „Häufig trifft man den Pilz auch an Faulstellen von Tomaten, die besonders am Stielende auftreten oder auch von Rissen ihren Ursprung nehmen."

Obwohl das „Kelchende" strenggenommen kein morphologischer Begriff ist, möchte ich an der Bezeichnung „calyx-end" (Samuel 1932) festhalten. Mit „Kelchendfäule der Tomate" ist der typische Entstehungsherd der Krankheit gekennzeichnet, der mit großer Wahrscheinlichkeit eine Verwechslung mit anderen, epidemisch viel belangloseren Fäulen ausschließt. Während z. B. *Alternaria tenuis* sich vorzugsweise an mechanisch entstandenen Wunden bzw. Verletzungen der Frucht ansiedelt, vermag *Phoma destructiva* sich gelegentlich auch am Kelchende flächig auszubreiten. Infolge des dichten Pyknidenrasens erscheint die Oberfläche dieses Faulfleckes jedoch feinkörnig, und die schwach elfenbeinfarbigen Sporenschleime verleihen ihr einen helleren Schein.

III. Feldbeobachtungen zum Auftreten der Dürrflecken in den Jahren 1949/50

Meine Feldbeobachtungen konnte ich in zwei wichtigen, klimatisch für den Pilz nicht ungünstigen Anbaugebieten, im Rheinland und in Niedersachsen, durchführen. Sie dienten, neben Ermittlungen über den gegenwärtigen Spontanbefall, vor allen Dingen der Materialbeschaffung als Voraussetzung für die vergleichenden Pathogenitätsprüfungen mit verschiedenen Herkünften und Sorten.

1. Kartoffel

Die Dürrfleckenkrankheit der Kartoffel tritt alljährlich auf, viel seltener epidemisch als für gewöhnlich sporadisch. Nur unter besonderen Umständen,

extrem günstiger Witterung zur Zeit der größten Anfälligkeit der Pflanze (nach der Blüte!), hoher Aggressivität des Pilzes und Anfälligkeit der Sorte, kommt es zu starkem Befall.

Meine eigenen Beobachtungen decken sich mit denen anderer Autoren (RANDS 1917, REILING 1930, KLAUS 1941), nach deren Angaben sich die Krankheit am Laube erst voll entwickeln kann, wenn der Höhepunkt des Wachstums überschritten worden ist. BONDE und LIBBY (1940) bezeichnen die Dürrfleckenkrankheit sogar als eine „Alterskrankheit" (old age disease).

Typische Dürrflecken in größerer Zahl sind meist nicht vor Mitte Juli zu erwarten. In dieser Zeit reifen die frühen Sorten heran oder sind je nach Lage und Witterung schon im Abreifen begriffen.

„Frühe und mittelfrühe Sorten werden deshalb so häufig ein Opfer des Pilzes, weil ihre kritische Wachstumszeit mit dem Optimum des Pilzbefalls zusammenfällt" (REILING 1930).

Wenn die Frühsorten den stärksten Befall zeigen, beginnt die Krankheit an den mittelfrühen und mittelspäten Sorten, doch ist, auch bei den späten Sorten, der Befallsgrad sehr verschieden und weitgehend von äußeren Faktoren abhängig. Befallsdaten sind in der Tabelle der „Herkünfte" enthalten. Die Sporenbildung auf der Oberseite der Blätter ist niemals so stark, daß sie einen sichtbaren Überzug bildet. In der Regel ist sie während der „Juli-Hitze" minimal, um von September an stetig zuzunehmen. Für die schnelle Ausbreitung des Pilzes von den Infektionsnestern aus über das ganze Feld hinweg ist dieser Umstand von größter Wichtigkeit. Die Krankheit kann aber auch auf flache Mulden beschränkt bleiben.

Im auffälligen Gegensatz zu dem etwa Anfang bis Mitte Juli beginnenden Befall der Kultursorten steht um dieselbe Zeit der starke Sämlingsbefall in verschiedenen Zuchtgärten Niedersachsens. Die Pflanzen schienen parzellenweise vollkommen vergilbt, die einzelnen Blätter waren mit riesigen braunen, ineinander übergehenden Flecken übersät.

Hier interessieren besonders die Mitteilungen von REILING (1930), der über einen optimalen Krankheitsverlauf bei der Anzucht von Sämlingen berichtet. Nach seiner Auffassung beruht die starke, unterschiedliche Anfälligkeit auf der verschiedenen erblichen Veranlagung.

2. Tomate

Der Zeitpunkt des ersten Auftretens der Dürrflecken an Tomatenblättern Mitte Juli stimmt ungefähr mit dem für Kartoffeln überein; vielleicht liegt er etwas später. Wüchsige starke Pflanzen widerstehen dem Befall anscheinend länger.

Am 31. Juli, während einer Besichtigung im Landkreise Bonn, zeigten sich fast ausnahmslos die typischen *Alternaria*-Flecken. Mitte August am Niederrhein, in der Straelener Gegend, wo die Quartiere in freierer Lage auf sandigem Boden standen und dem abtrocknenden Winde ausgesetzt waren, trat die Krankheit weniger in Erscheinung.

Über die Sortenanfälligkeit ließ sich im Umkreise von Bonn, in dem überwiegend Rheinland's Ruhm angebaut wird, weniger in Erfahrung bringen. Im Sortiment einer niederrheinischen Samenzuchtfirma konnte ich folgende Sorten als befallen feststellen:

Ailsa Graig, Bonner Beste, Condine Red, Deutscher Fleiß, Essex, Freiland Wunder, Frühe Niedere, Früheste von Allen, Frührot, Lukullus, Prime, Radio, Rheinland's Ruhm, Sieger, Tuckswood und Viktoria.

Buschtomaten: Erste Ernte, Fargo's Busch und Heinemann's Busch.

Wohl zeigten einige Sorten geringeren Befall, doch fand ich Mitte August keine einzige Sorte ohne Befall. Gelegentlich hob sich innerhalb einer Reihe die eine oder andere Pflanze durch stärkeren oder schwächeren Befall hervor.

Meine Beobachtungen in Süddeutschland, in der Stuttgarter und Tübinger Gegend, waren den geschilderten durchaus ähnlich. Während ich die Krankheit auch dort fast stets in größeren Anbauquartieren fand, konnte ich sie in Hausgärten nur vereinzelt feststellen.

Auch im Gewächshaus vermag die Krankheit aufzutreten. Mir ist jedoch nur ein einziger starker Dürrfleckenbefall unter Glas bekanntgeworden. Die ersten Anzeichen erschienen nach Mitte Juli, die Krankheit breitete sich von der Mitte des Hauses aus. Abb. 7 zeigt eine stark befallene Pflanze sechs Wochen später.

Einen wesentlich leichteren Befall stellte ich dann noch in der Straelener Gegend fest. Dort trat der Schaden gegenüber dem durch *Cladosporium fulvum* verursachten weit zurück.

Bei der Tomate war die Sporenbildung auf den Blättern vor Beginn des Frühherbstes ebenfalls mangelhaft. Eine Ausnahme hiervon bildeten die Flecken im Gewächshaus, auf denen der Pilz, vermutlich infolge der höheren Luftfeuchtigkeit, reichlich fruktifizierte, was zu seiner rapiden Ausbreitung sicher viel beigetragen hat.

Abb. 7. Dürrfleckenkranke Tomatenpflanze im Gewächshaus nach etwa sechswöchigem Befall

Die von McWhorter (1927) in Amerika beschriebenen Erscheinungsformen der Krankheit wie „Damping off" oder „Seedling Blight" oder „Foot rot" und „Collar rot" (Wurzelhalsfäule), die er unter „Early Blight diseases of Tomato" zusammengefaßt hat, konnte ich nirgends beobachten.

IV. Feldbeobachtungen und Geschichtliches zur Kelchendfäule

Meine Beobachtungen über die Kelchendfäule der Tomate erstreckten sich über die Jahre 1949 und 1950 in einem der größten Anbaugebiete von Deutschland. Laut Angabe des Statistischen Landesamtes betrug der Umfang des Tomatenanbaues im Stadt- und Landkreise Bonn im Jahre 1949 132 ha, im Jahre 1950 sogar 181 ha, was etwa 11 % des Gesamtanbaues entspricht.

Die ersten Krankheitsfälle sind im Hochsommer zur Zeit der beginnenden Reife der Früchte zu erwarten. Von der halberwachsenen Frucht an wird jedes Stadium befallen. Die Krankheit bedingt häufig Notreife, was auch von SAMUEL (1932) berichtet wird. Grüne, halbreife Tomaten scheinen gegen Ende der Vegetationszeit besonders anfällig. Man findet die Fäule ebensooft in der mittleren Höhe der Pflanzen wie tief unten. Die größere Anfälligkeit geschwächter Pflanzen ist offenbar (vgl. hierzu auch RAMSAY und LINK 1932), in solchen Plantagen betragen die Verluste bis zu 50 % und mehr, in starkwüchsigen dagegen etwa 20 % und weniger. Ist der Pilz erst einmal in eine Anlage eingedrungen, so ist sein Vordringen nicht mehr aufzuhalten. Die Schnelligkeit der Ausbreitung wird von Standortsverhältnissen bestimmt. Nach Aussagen der Anbauer ist sie sehr „vom Wetter" abhängig, von viel Regen und Schwüle. Sie kann innerhalb weniger Tage einen enormen Umfang annehmen. Nach meinen Erfahrungen tritt die Krankheit nur in Massenanbauquartieren und nur unter für den Pilz günstigen Lebensbedingungen epidemisch auf. Beides trifft für die Umgebung von Bonn in hohem Maße zu. Die Stärke des Fruchtbefalls steht zum Dürrfleckenbefall nicht in Korrelation, doch konnte ich keinen einzigen Fruchtbefall ohne gleichzeitigen Blattbefall entdecken.

Während sich die Krankheit im Umkreis von Bonn am stärksten zeigte, war sie in anderen größeren Anbaugebieten rheinabwärts etwa bis Kleve nicht so massiert. Ohne daß der Erreger als *A. solani* erkannt worden wäre, wurde mir von verschiedenen Seiten versichert, daß diese Fruchtfäule alljährlich, seit mehr als zwei Jahrzehnten (!), aufgetreten ist. Allem Anschein nach bietet die Lage von Bonn und Umgebung ein optimales Klima für den Parasiten; die Massensporenbildung des Pilzes ist hier unerschöpflich.

Sucht man nach einer Erklärung, so mag sie im Klima-Studium der „Kölner-Bucht-Region" (RIDDER 1935) gefunden werden: föhnartige Wetterlage, Juli-Mittel 18 ° C, Extremwert 31,8 ° C, häufige Gewitter von kurzer Dauer, größte Schwankung aller Feuchtigkeitstypen.

Nachdem RAABE (1938) erstmalig auf die Bedeutung des Pilzes als eines Fruchtfäuleerregers hingewiesen hat („Ungleich bedeutsamer als für die Kartoffel ist die Krankheit in der hiesigen Gegend für die Tomate"), fand ich sie 1950 auch in Tübingen wieder, desgleichen in Stuttgart, jedoch nicht so verheerend. Aus Heidelberg sandte mir Herr Dr. Hochapfel Material sowie Hinweise auf ähnliche Funde aus der Liegnitzer Gegend im Jahre 1940, ebenfalls aus größeren Anbaugebieten. Vereinzeltes Auftreten meldete Herr Reg.-Rat

Dr. H. Pape aus Kiel; eine weitere Herkunft erhielt ich aus einem Privatgarten Thüringens.

Aus Europa berichtet bisher nur NEERGAARD (1945) einen ernstlichen Schadensfall aus Falster (Dänemark). Der Abbildung nach liegt keine Kelchendfäule vor, vielmehr die seltenere seitliche Faulfleckigkeit durch denselben Erreger, wie sie u. a. auch RAMSAY und LINK (1932) als Lagerfäule erwähnt haben. Von Frau Troelsen-Johansen erhielt ich dagegen Ende September 1950 einige typisch kelchendfaule Tomaten aus Lyngby (Dänemark) zugesandt. Die Früchte zeigten aber nur mäßigen Befall, und die Einsenderin bemerkt dazu, daß diese Krankheitserscheinung nicht sehr verbreitet sei, auf jeden Fall weniger als die Dürrflecken. Anders in Amerika. MCWHORTER (1927) berichtet von jährlich starken Schäden durch den Pilz in Virginia (10 bis 70 %). Die Krankheit wurde 1924 erstmalig beobachtet und zwei Jahre später eingehend von ihm untersucht. Trotz ihres seuchenartigen Auftretens fand er die so charakteristische Fäule in anderen Gegenden nicht. In 90 % aller Krankheitsfälle entstanden die Flecken in der Kelchgrube. Dieselbe Krankheitserscheinung fand SAMUEL (1932) in Südaustralien. Nach seiner Beschreibung trat sie dort aber nur sporadisch auf.

V. Der Erreger

1. Isolierung der Herkünfte

Nach der Materialentnahme während der Feldbeobachtungen hatte ich v i e r Gruppen von Pilzstämmen zur Verfügung, die durch folgende ausländische bzw. überseeische Herkünfte ergänzt werden konnten:

Berkeley (California, USA), Brunico (Oberitalien), Canberra (Australien), Geneva (New York, USA), Lyngby (Dänemark), Kerkov (Tschechoslowakei), Nouméa (Neukaledonien).

H e r k ü n f t e

Nr.	Herkunft	Datum	Nr.	Herkunft	Datum
K a r t o f f e l b l a t t s t ä m m e :			K a r t o f f e l k n o l l e n s t ä m m e :		
31	Vera, Pfalz	22. 6. 49	38	Sorte?, Bonn	14. 4. 49
32	Vera, Bonn	28. 6. 49	65	Erstling, Oldenburg	22. 10. 49
36	Frühbote, Niedersachen	6. 7. 49	72	Allerfr. Gelbe, Nieders.	11. 49
37	Säml., Niedersachsen	6. 7. 49	74	Primula, Kaarst	12. 49
50	Hochproz., Bonn-Land	12. 9. 49	78	Flava, Niedersachsen	4. 50
53	Pommernbote, Niedersachsen	9. 49	106	Bona, Rheydt	11. 50
46	Sorte?, Lyngby	8. 49	107	Allerfr. Gelbe, Nieders.	11. 50
49	Säml. Bonn-Land	12. 9. 49	108	Säml., Niedersachsen	11. 50
54	Ackersegen, Niedersachsen	9. 49			
55	Säml., Niedersachsen	9. 49			
59	Sorte?, Brunico	9. 49			
68	„ Geneva	10. 49			
77	„ Kerkov	3. 50			
79	„ Nouméa	21. 7. 50			

Herkünfte

Nr.	Herkunft	Datum	Nr.	Herkunft	Datum
Tomatenblattstämme:			Tomatenfruchtstämme:		
51	Berlin	8. 49	61	Bonn	14. 8. 49
52	Bonn	9. 49	62	Bonn-Land	16. 10. 49
63	„	10. 49	69	Geneva	10. 49
73	Berkeley	11. 49	75	Canberra	2. 50
80	Bonn	25. 7. 50	81	Bonn-Land	31. 7. 50
82	Dierfeld, Eifel	1. 8. 50	85	Niederrhein	15. 8. 50
84	Niederrhein	15. 8. 50	86	Heidelberg	17. 8. 50
87	Stuttgart	26. 8. 50	88	Stuttgart	26. 8. 50
89	Tübingen	26. 8. 50	90	Tübingen	26. 8. 50
92	Thüringen	30. 8. 50	91	„	26. 8. 50
94	Bonn-Land	30. 8. 50	93	Thüringen	30. 8. 50
96	Lyngby	21. 9. 50	95	Bonn-Land	30. 8. 50
102	Euskirchen	16. 10. 50	98	Lyngby	31. 9. 50
			100	Kiel	30. 9. 50
			101	Euskirchen	16. 10. 50

Die Isolierung der Dürrfleckenstämme von Kartoffel- und Tomatenblättern war verhältnismäßig einfach, solange genügend Sporen zur Verfügung standen, was vor Beginn des Frühherbstes allerdings selten war.

Wegen der äußerst empfindlichen Fiederblättchen empfiehlt es sich nicht, den Pilz in der feuchten Kammer zur Sporulation bringen zu wollen. Die Blättchen können in etwa zwei Tagen bereits wegfaulen; die der Tomaten sind widerstandsfähiger. Gegenüber dem fast regelmäßig vergesellschafteten *Cladosporium herbarum* wächst *A. solani* viel zu langsam, infolgedessen kann das Material zur Isolierung völlig unbrauchbar werden. Eine Desinfektion des zarten Blattgewebes ist aber nicht ratsam. Am besten werden die Blättchen einzeln zwischen grobe Filtrierpapierstreifen gebettet und herbarmäßig getrocknet. Aus diesen künstlich getrockneten Blattflecken gelingt es — ohne Desinfektion — mühelos, den Pilz durch Übertragung auf Malzagarplatten herauszuzüchten.

Im allgemeinen wächst der Pilz auf künstlichen Medien ohne jede Schwierigkeit; dagegen gehört er bekanntlich zu den schlechtesten Sporenbildnern in Reinkultur. Diese Eigentümlichkeit in Verbindung mit der ebenso charakteristischen gelben Verfärbung des Substrates (vgl. S. 146) bildet ein sicheres Hilfsmittel zur Identifizierung des Pilzes.

KLAUS konnte nach erfolgter Analyse des Einflusses der Außenfaktoren auf die Sporenentwicklung diese bei seinen Stämmen zu vollem Erfolge führen. Ich verweise deshalb hier auf die von ihm angewandte und später von NEERGAARD (1945 S. 29) etwas abgewandelte Methode.

Die Herstellung von Einsporkulturen erfolgte bei Zimmertemperatur (20—21° C) auf filtriertem Malzagar. Mit einer stumpfwinklig gebogenen Platinöse entnahm ich die Sporen entweder direkt vom Blatt oder bei reichlicher vorhandenem Sporenmaterial auch aus einer Suspension. Auf vorgezeichneten Tuschestrichen zog ich den Tropfen langsam über die Agarschicht. Gegen übermäßiges Bakterienwachstum wurde jeder Platte vorher ein Tropfen 25%iger Milchsäure zugesetzt. Die Sporenkeimung war sehr unterschiedlich, was vielleicht auf den verschiedenen Reifegrad der Sporen zurückgeführt werden kann.

Die von ZADINA (1949) gemachte Beobachtung, daß *Alternaria solani* stets mit *A. tenuis* und *Macrosporium*-Arten vergesellschaftet vorkommt, kann ich nicht bestätigen.

Bei der Kelchendfäule machte die Isolierung der Tomatenfruchtstämme infolge der reichlichen Fruktifikation keine Schwierigkeiten.

Die Anzahl der Knollenstämme entspricht den einzigen mir zu Gesicht gekommenen Krankheitsfällen von Hartfäule, stellt also keine Auswahl dar. Während ich bei den häufigen Reisolierungen aus meinen künstlich infizierten Kartoffeln den Erreger zu jeder Zeit mühelos herauszüchten konnte, mußte ich bei einem Spontanbefall typischer Hartfäule stets mit der Notwendigkeit mehrerer Isolierungsversuche rechnen, vor allem im Frühjahr.

Zur Isolierung aus kranken Knollen verwendete ich wieder mit gutem Erfolge leicht angesäuerte Malzagarplatten, von denen nach erfolgter Sporenbildung (nach der Methode von KLAUS-NEERGAARD) Einsporkulturen hergestellt wurden.

Die ausländischen Herkünfte habe ich, abgesehen von drei Reinkulturen (Nr. 46, 73, 75), von Herbar-Material selbst isoliert.

2. Morphologie und Nomenklatur

Das Hauptgewicht meiner Untersuchungen lag auf den Pathogenitätsprüfungen, mit deren Hilfe ich gleichzeitig den sicheren Nachweis für die richtige Bestimmung meiner Pilzstämme führen konnte. Trotzdem mußte ich auch über die morphologischen Merkmale zur Identifizierung gelangen können.

Die morphologischen Hauptunterschiede der Gattung *Alternaria* gründen sich nach NEERGAARD (1945) auf die Konidie, ihre Form, Größe und Septierung, die mehr oder weniger verlängerte Scheitelzelle, die Konidienfarbe und die Abschnürung vom Konidienträger, ob einzeln oder in Ketten. NEERGAARD unterscheidet nach Art der Konidienabschnürung drei Sektionen:

Sectio I mit langen Ketten, in der Regel zehn und mehr Sporen lang (*A. tenuis*),

Sectio II mit kurzen Ketten, in der Regel drei bis fünf Sporen lang,

Sectio III ohne Ketten, in der Regel einzeln, höchstens zwei Sporen lang, (*A. porri*).

Die Grundart *A. porri* hat mit ihren beiden physiologischen Formen folgenden Wirtspflanzenbereich:

A. porri	auf	Liliaceen
A. porri f. dauci	auf	Compositen
A. porri f. solani	auf	Solanaceen

Aus Gründen der Vereinfachung und gestützt auf meine Infektionsergebnisse habe ich mich auf die Feststellung absoluter Sporenmaße (Sporenkörper plus verlängerte Scheitelzelle) beschränkt.

Zur Sporenmessung wurde mit wenigen Ausnahmen nur Herbarmaterial (auch von Tomatenfrüchten) verwandt, mindestens 30 Sporen, meistens 100, je nach Vorrat. Ausnahmen waren Nr. 31, 36 und 37; diese wurden von frischem Material (nach Zeichnungen mit dem Abbe'schen Apparat) gemessen.

Konidienmaße von *A. porri f. solani* nach Herbarmaterial im ♁
(Totale Länge)

Kartoffelblattstämme	(14)	93 — 238 × 12 — 18,8 µ
Kartoffelknollenstämme	(8)	87 — 243 × 11,8 — 18,9 µ
Tomatenblattstämme	(14)	80 — 237 × 10,5 — 19 µ
Tomatenfruchtstämme	(16)	86 — 232 × 11,3 — 20 µ

Gelegentliche Messungen von Konidienträgern ergaben 160 bis 235 × 7 bis 7,5 μ.

Was die Form der Konidien betrifft, so möchte ich Unterschiede zwischen „jugendlich langen schlanken“ und älteren „gedrungenen“ Formen aufzeigen.

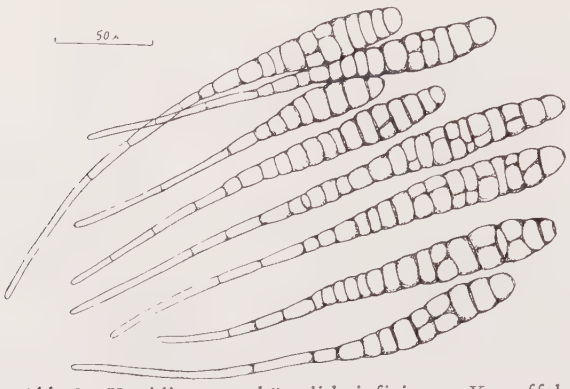


Abb. 8. Konidien von künstlich infizierten Kartoffelblättern, 14 Tage nach der Infektion gezeichnet („Jugendstadium“)

Die verschiedenen Stadien der Entwicklung sind mir bei der Beobachtung meiner Blattinfektionen besonders deutlich geworden. Ungefähr zwei Wochen nach der Infektion gezeichnete Konidien (Abb. 8) unterschieden sich (im Durchschnitt) von den nach vier Wochen und später gezeichneten Reifestadien erheblich (Abb. 9). Das Alter ging auch aus ihrer tiefen Bräunung hervor. Die Altersstadien wären eine einfache Erklärung für die große Variationsbreite der Konidiengröße in der Natur.

Hier sei auch auf eine häufig zu beobachtende morphologische Eigentümlichkeit des Myzels aufmerksam gemacht, die ich für charakteristisch halte. NEERGAARD schreibt, in der Natur könnten sich die Konidienträger des Pilzes manchmal von sklerotienähnlichen „Zellhaufen“ erheben, worauf ANGELL (1929) zuerst hingewiesen hat.

Meines Wissens haben REINKE und BERTHOLD (1879) den Begriff „Zellhaufen“ erstmalig geprägt, und zwar in seiner Funktion als Dauermyzel. Sie schreiben: „Die kurzen Zellen (gemeint sind die Hyphen von *Verticillium alboatrum*) wachsen in die Dicke und nehmen kugelförmige Gestalt an. Bei Zusammenlagerung entstehen schwarze Zellhaufen von verschiedener Größe und unregelmäßiger Gestalt.“

Die von mir häufig beobachtete Umwandlung des Substratmyzels in eine Art Dauermyzel ist bisher für *A. solani* nie erwähnt worden. Besonders oft ließ sich diese Veränderung in älteren Plattenkulturen finden, wenn der Pilz mit konkurrierenden Organismen vergesellschaftet war. Ähnliches konnte ich auch bei meinen Blattinfektionen beobachten. Sobald ein Blatt zur Erde fiel, entwickelten sich schnell und reichlich Sporen, die vorher nur zögernd aufgetreten waren.

Abb. 9. Konidien von künstlich infizierten Kartoffelblättern, etwa vier Wochen nach der Infektion gezeichnet („Reifestadium“)

Aber auch in Reinkultur war eine allmähliche Verstärkung der Membranen zu Dauerzellen festzustellen, besonders mit zunehmendem Alter (Abb. 10). Die interkalar gebildeten Dauerzellen reihen sich perlschnurartig, Chlamydosporenketten ähnlich, aneinander. Der Inhalt der Zellen besteht aus großen Tropfen, die sich unter Einwirkung von Osmiumsäure schwarz färben, was auf fettartige Substanzen, vermutlich Reservestoffe des Pilzes, schließen läßt. Nach meinen Beobachtungen erscheint es auch nicht ausgeschlossen, daß *A. solani* imstande ist, sich durch „Zerfall" des Dauermyzels zu vermehren. Übertrug ich z. B. in die Mitte eines Schrägröhrchens ein älteres Myzelstück, so bildeten sich manchmal nach wenigen Tagen auf der ganzen Länge kleine Pilzkolonien. Da keine Konidien in Frage kamen, können es nur Hyphenzellen gewesen sein, die sich durch Bewegen des Röhrchens und unter Mithilfe des Kondenswassers verteilt haben.

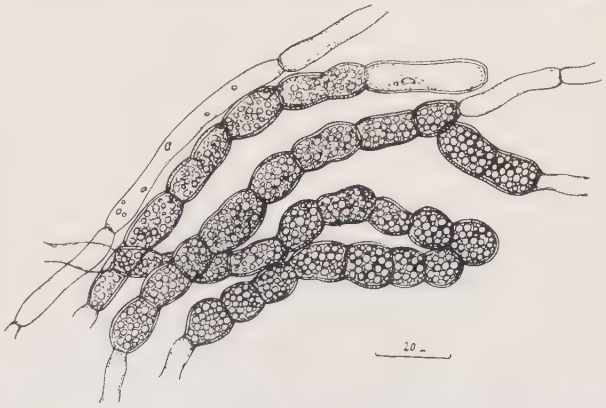


Abb. 10. „Dauerzellen" (Chlamydosporenketten ähnlich) bei *A. solani*

Auf Grund eingehender Vergleiche und Infektionsversuche hat Neergaard den bestehenden Namen des Pilzes *Alternaria solani* (E. et M.) Jones et Grout eingezogen. Er ersetzt die *species solani* durch die *forma specialis solani* und unterstellt sie der älteren Art *porri*. Er begründet seine Auffassung mit dem physiologischen Charakter des Pilzes; ein Unterschied zwischen *A. porri* und *A. solani* bestehe nur in ihrem abweichenden Parasitismus, die morphologischen Merkmale seien praktisch gleich.

Nach Meinung von Neergaard müßte es, entgegen den herrschenden internationalen Nomenklaturregeln (wonach bei einer Neuaufstellung stets der älteste Artname zugrunde gelegt werden muß), folgerichtiger sein, immer den ältesten von allen zur Diskussion stehenden Namen auszuwählen, gleichgültig ob er ursprünglich den Rang einer Art oder Varietät eingenommen hat. Dann müßte der neue Name des Pilzes anders lauten: *A. dauci* (Kühn) Neerg. *f. sp. solani* (E. et M.) Neerg., weil die in Frage kommende Varietät *„dauci"* (1855) älter ist als die in Frage kommende Art *„porri"* (1879). Sie wurde 1855 von Kühn als *Sporidesmium exitiosum* var. *dauci* aufgestellt.

Da es nicht ausgeschlossen ist, daß sich die eben geschilderte Auffassung von Neergaard in der neueren Literatur (z. B. bei Viennot-Bourgin, 1949, der den Erreger der Dürrfleckenkrankheit der Kartoffel *A. dauci* [Kühn] Groves et Skolko *f. solani* [E. et M.] Neerg. nennt) hier und da durchsetzt — auch um Irrtümern vorzubeugen, als handele es sich um zwei verschiedene Erreger —, habe ich es für notwendig gehalten, auf den Zusammenhang der verschiedenen Namengebung einzugehen.

Unter Hinweis darauf, daß Neergaard seinen eigenen Vorschlag, den Pilz besser *A. dauci* f. *solani* zu nennen, bisher nur zur Diskussion gestellt

hat und den herrschenden Nomenklaturregeln folgt und ihn *A. porri* f. *solani* nennt, habe auch ich an der von ihm gewählten Namensgebung: *Alternaria porri* (Ell.) Saw. f. spec. *solani* (E. et M.) Neergaard festgehalten.

3. Physiologie

Zu meinen Infektionen benötigte ich kurz und dicht wachsendes Myzel, das sich wenig über den Agar erhob, ihn eher etwas durchwachsen sollte (Substratmyzel!). Diese Forderung war am besten auf Malzagar und Reisbrei erfüllt (2,5 % Malzextrakt und 2 % Agar; auf 1 g Reis 3 ccm Wasser). Die Fähigkeit zur Farbstoffbildung, ein wertvolles diagnostisches Hilfsmittel, war auf diesen beiden Nährböden hervorragend gut entwickelt. Ich schlage vor, diese Farbtönung, der ich besonderen Wert beimesse, als „Bernsteinfarbe" zu bezeichnen.

Auf die Farbstoffbildung bei *A. solani* hat BONDE (1929) ausführlich hingewiesen. Es handelt sich um einen spezifisch leuchtend gelben Farbstoff (clear yellow pigmentation), der meines Wissens für die von mir benutzten Nährböden noch nicht beschrieben worden ist. BONDE spricht davon, daß diese „Fähigkeit" nach sieben bis zehn Generationen verlorengehen kann, teilt seine Stämme aber in „chromogene" und „nichtchromogene" ein. Von meinen 52 Pilzstämmen haben 95 % dieses Merkmal gezeigt, nur drei blieben dunkel (Nr. 67, 92, 93). Während die Farbe kurz nach der Isolierung meist gebildet wird, kann sie im Laufe der Kultur Intensitätsschwankungen unterworfen sein (Nr. 37, 53, 63), kann verlorengehen (Nr. 52, 38, 65, 62) und wieder auftauchen (Nr. 68, 72).

Einen Farbumschlag von Gelb nach Rot (gelb für Säure und rot für Alkali), den BONDE nachgewiesen hat, habe ich auf den von mir benutzten Medien nicht festgestellt. Es ist aber interessant, daß neuerdings englische Forscher, BRIAN u. Mitarb. (1949), diese Neigung des Pilzes zur Säurebildung näher untersucht haben. „Alternaric Acid" wird als biologisch aktives Zwischenprodukt des Pilzes bezeichnet, dem eine außerordentliche spezifische pilzhemmende Kraft zugeschrieben wird. THOMAS (1948) schreibt: „Wie andere Autoren annehmen, kann *A. solani* mit fortschreitender Krankheit ein diffusibles Toxin in Tomatenpflanzen erzeugen. Es wäre interessant festzustellen, ob Alternaric Acid auch für diesen phytotoxischen Effekt in Frage kommt."

BONDES Feststellung, daß die Farbstoffbildung nicht in Beziehung zur Pathogenität zu stehen braucht, kann ich bestätigen.

Die Beschreibung des Pilzmyzels meiner Kulturen deckt sich mit der von NEERGAARD. Ich konnte weißes zartes Luftmyzel gegenüber rauch- bis olivenfarbenem Substratmyzel am feuchten Grunde beobachten.

Die einzelne Pilzkolonie erscheint dichtwollig, gleichmäßig vom Zentrum ausstrahlend. Die äußersten Hyphen entwickeln kurze Seitenäste. *A. tenuis* wächst dagegen flockenartig mit weit ausgreifendem (suchendem) Myzel.

Bei *A. solani* wechselt der Gesamteindruck der Farben einer jungen Kolonie von hellgrau (fast weiß) über dunkelgraugrün bis hellbraun nach

schwarz; sogar spangrüne Farbtöne treten anfänglich auf. Nicht selten sieht eine Überimpfung nach acht bis zehn Tagen wie ein „Knopf" aus, bei dem Farbenringe aufeinanderfolgen. Alle diese Merkmale sind jedoch nicht so konstant, daß sie nicht von einer zur anderen Übertragung innerhalb der Farbenskala wechseln könnten.

Stichhaltige Anhaltspunkte für physiologische Rassenbildung in vitro konnte ich bei meinen Pilzstämmen nicht finden. Häufig kann man beobachten, daß das Wachstum des Pilzes plötzlich stoppt. Der Rand der Kolonie kräuselt sich, und die Hyphen beginnen in den Agar hineinzuwachsen.

Nach meinen Erfahrungen ist eine gelegentliche Auffrischung aus Trockenkulturen des Pilzes vorteilhaft; anscheinend erhält das Wachstum hierdurch neue Impulse.

Über die Dauer der Virulenz berichtet Neergaard, daß sie vom zweiten bis fünften Jahre an nachzulassen beginnt, eventuell schon nach dem ersten Jahre. Im Zeitraum meiner Untersuchungen ließen sich keine bemerkenswerten Veränderungen in dieser Richtung feststellen.

VI. Untersuchungen zur Agressivität und Pathogenität des Erregers (Verhältnis von Wirt und Parasit)

1. Entwicklung und Beschreibung geeigneter Infektionsmethoden sowie Zeitpunkt für die künstliche Infektion

a) Kartoffel, Laub und Knolle

Blattinfektionen bereiten keine Schwierigkeiten.

Ich verwendete hierzu Myzel des Pilzes, das ich auf einer flachen Embryoschale verrieb und mit dest. Wasser leicht aufschwemmte. Von diesem dünnflüssigen „Brei" übertrug ich mit einem flachen Haarpinsel eine dünne „Schicht" auf die Unterseite der Blättchen. Diese Methode rief gegenüber der durch Übersprühen eine häufigere Fleckenbildung hervor.

Zur Isolierung der Pflanzen verwendete ich Zylinder aus Glas (20 cm hoch, 10 cm ⌀), die sich bequem über eine dreitriebige Augenstecklingspflanze stülpen ließen. Die Pflanzen durften nicht allzu buschig sein; trotzdem halte ich kräftigere Knollenpflanzen für besser. Die Regulierung der Luftfeuchtigkeit erfolgte durch Verschieben einer Glasplatte, mit der der Zylinder abgedeckt war. Nach einigen Tagen wurde diese abgenommen, da zu hohe Feuchtigkeit *Botrytis*-Gefahr bedeutet. In den Monaten Mai bis Juli ist das Optimum für den Parasiten (*A. solani*) leicht zu halten. Es ist dabei zu beachten, daß das Gewächshaus ständig schattiert bleibt, um Verbrennungen zu verhüten.

Für eine erfolgreiche Knolleninfektion kommen zwei verschiedene Alterstadien der Kartoffel in Frage: kurz nach der Ernte (Folsom und Bonde 1925, Goossens 1937, Klaus 1941, Johansen 1948) und mit der beginnenden Keimung. Offenbar ist die Keimruhe die widerstandsfähigste Phase während der Lagerung. Es ist nicht ratsam, vor Mitte Dezember mit den Infektionen zu beginnen, man kann dafür aber bis in den Mai hinein infizieren.

Klaus schreibt: „Obwohl die grundsätzliche Möglichkeit der Sporeninfektion erwiesen war, mußte ihre Anwendung für die meisten Untersuchungen, der Unsicherheit wegen, abgelehnt werden. Die Forderung, die

an die geeignete Methode zu stellen war, war ein gleichmäßiger schneller Befall, der auch ein gleichmäßiges Fortschreiten des Pilzes im Knollengewebe gewährleisten sollte."

Diese Forderung kennzeichnete auch meine Bemühungen, zu einer absolut zuverlässigen und schnellen Prüfung der Stämme und Sorten gelangen zu können.

Es empfiehlt sich, gleichmäßig glatte, nicht bucklige Knollen mittlerer Größe zu verwenden. Diese wurden einzeln und vorsichtig mit einer weichen Handbürste unter fließendem Wasser gereinigt, in dem sie etwa zwei Stunden verblieben. Von einer Desinfektion mit Sublimat nahm ich Abstand, nachdem mir aufgefallen war, daß solche Knollen gern von Schimmelpilzen besiedelt wurden, sobald die umgebende Luft feuchter wurde.

Aus dem Wasserbad wurden die Knollen zum Abtrocknen auf saubere Tücher gebreitet.

Die Aufbewahrung der Kartoffeln erfolgte einschichtig in großen, flachen, vorher mit Alkohol desinfizierten Glasschalen mit Deckel im Laboratorium bei ± 21° C. Wie die Erfahrung zeigte, ließ man sie am besten vier bis fünf Tage zur Akklimatisation unberührt stehen. Die Deckel der Schalen mußten täglich einmal, mindestens 15 Minuten lang, gelüftet werden. Diese Vorsichtsmaßregel wurde gegen Anreicherung von CO_2 und Wasserdampf durchgeführt. Ich habe sie auch während der ganzen Inkubationszeit (die ersten zehn Tage) streng beachtet. Vom elften Tage an ließ ich die Schalen offen stehen.

Jede Knolle kann — in genügendem Abstand voneinander — mehrere, bis zu drei Infektionsstellen erhalten.

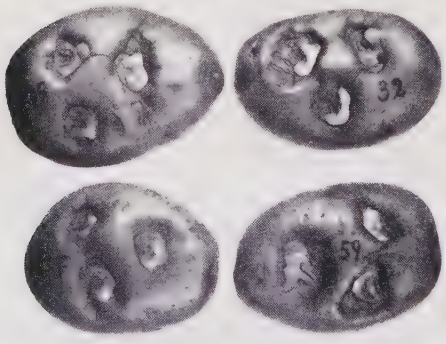


Abb. 11. Künstlich mit *A. solani* infizierte Knollen der Sorte Bintje, fünf Wochen nach der Infektion

Vor dem Ansetzen des Schnittes wird die Schale mit Alkohol betupft. Im stumpfen Winkel zueinander werden mit einer scharfen Lanzettnadel zwei Schnitte von je 5 mm Länge (höchstens 1 mm tief) geführt. Der so enstandene Zipfel wird gelüftet und ein kleiner Myzelbrocken untergeschoben; nach dem Andrücken des Zipfels hervorquellender Impfstoff wird sauber entfernt. Die Wunde wird entlang der Schnitte mit Wachs leicht verschlossen, um vor Beginn des Pilzwachstums ein Abtrocknen des Impfstoffes zu verhüten.

Ich schnitt hierzu Wachsfäden in etwa 2,5 cm lange Stücke. An der Stichflamme des Bunsenbrenners leicht erhitzt, ermöglichten sie mir dünne Ausstriche. Die zahlreichen Kontrollen, die ich mit Wachs verschloß, ließen niemals eine schädigende Wirkung auf der Schale erkennen. Der dünne Wachsstrich erkaltete sofort, ohne zu verletzen. Für die Dauer der Inkubationszeit (meistens bedeutend länger) hielt dieser Verschluß dicht, allmählich lichtete er sich, und Luft strömte nach.

Das Ergebnis der Methode war befriedigend (vgl. Abb. 11). Als sichtbares Zeichen für die gelungene Infektion erhielt ich nach kurzer Zeit typische Hartfäule. Eine empfindliche Störung der Lebensvorgänge in der Knolle (während der Infektion) hatte anscheinend nicht stattgefunden, denn die künstlich erzeugten Krankheitsbilder entsprachen ganz den natürlichen.

Abb. 12 zeigt einen Querschnitt durch einen künstlich erzeugten Hartfäulefleck.

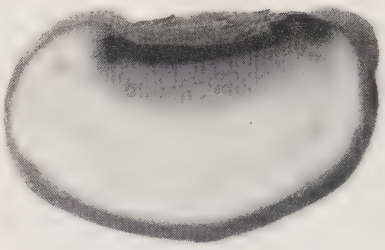


Abb. 12. Querschnitt durch einen etwa sieben Wochen alten, künstlich infizierten Hartfäulefleck

b) Tomate, Laub und Frucht

Für die Tomatenblattinfektionen trifft dasselbe zu wie für die Kartoffel, nur zeigten sich hier die Glaszylinder für ältere Pflanzen viel zu eng. Die Töpfe mußten in weitem Abstand voneinander aufgestellt werden.

Eine gewisse Schwierigkeit bestand darin, einerseits reife, glasartig spröde Blätter (wie sie in der Natur befallen werden) heranzuziehen und andererseits die Pflanzen niedrig und handlich zu erhalten. Dadurch, daß ich diese später nach dem sechsten Blatt kappte und die Achselsprosse ausbrach, entwickelten sich bedeutend kräftigere Blätter. Auch pflanzte ich zwei Sämlinge zusammen, wodurch sich diese gegenseitig stützten und mir doppelt soviel Blätter für einen Stamm brachten.

Die Tomatenfrucht wurde nach oberflächlicher Desinfektion leicht verletzt und etwas Myzel unter die Epidermis geschoben. Auch hier wurde mit Wachs verschlossen. Bei reifen Früchten muß vorsichtig geritzt werden, damit nicht zu viel Saft austritt. Am besten eignen sich halbreife Früchte zur Infektion.

Zur Aufbewahrung benutzte ich die bekannten Eierhürden aus steifer weißer Pappe. In ihnen ließen sich die einzelnen Tomaten bequem unterbringen, mit je einem Etikett unter jeder Frucht. Die Hürden hatten außerdem den Vorteil, daß sie sich leicht transportieren ließen. Sie wurden auf Hängebrettern im schattierten Gewächshaus aufbewahrt. Gegenüber der Aufbewahrung im Laboratorium zeigte sich, daß die Fleckenbildung im Gewächshaus typischer war.

Infektionen an hängenden Früchten (an eingetopften Pflanzen) sind schwieriger auszuführen und daher nicht zu empfehlen. Sie ergaben keine anderen Resultate, hatten vielmehr den Nachteil, daß die Früchte mit zunehmender Reife abfielen und aufplatzten.

Versuchsweise zwischen Kelch und Frucht untergeschobener Impfstoff ohne Wachsverschluß trocknete, trotz wiederholter Anfeuchtung, immer wieder ab, so daß es zu keiner Infektion kommen konnte.

Das Durchschnittsalter der zu allen Infektionen benutzten Reinkulturen war drei Wochen.

2. Pathogenitätsprüfungen

a) Inkubationszeit und Bonitierung

Grundsätzlich lassen sich Serienprüfungen als vergleichende Pathogenitätsprüfungen nur mit einer absolut zuverlässigen Infektionsmethode durchführen.

Der erste Winter (1949/50) diente der Ausarbeitung und Verfeinerung der geschilderten Knolleninfektionsmethode (vgl. S. 148), deren Erfolg in Abb. 11 demonstriert worden ist.

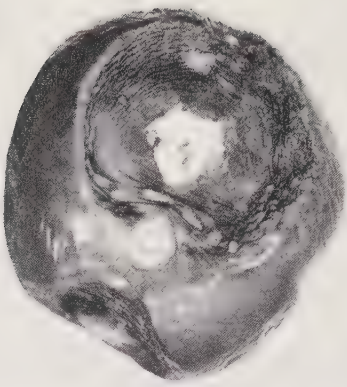


Abb. 13. Künstlich mit *A. solani* infizierte Tomate, drei Wochen nach der Infektion, offen im Gewächshaus aufbewahrt

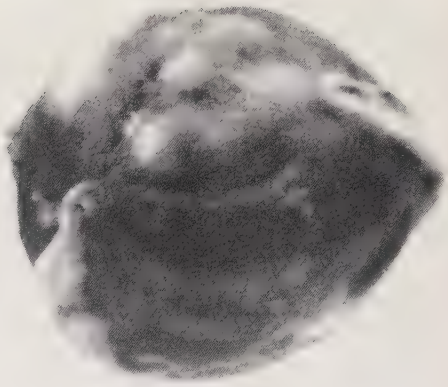


Abb. 14. Künstlich mit *A. solani* infizierte Tomate, drei Wochen nach der Infektion, unter Glas im Laboratorium aufbewahrt, mit völlig veränderten Symptomen

Zur besseren Beweisführung infizierte ich jede Knolle mehrmals. In Vorversuchen hatte sich gezeigt, daß die einzelnen Knollen auf diese Art der Infektion völlig gleichmäßig reagierten. Infolgedessen konnte ich mit der Knollenanzahl je Stamm und Sorte von drei Knollen mit je drei Infektionsstellen auf zwei Knollen mit je drei Infektionsstellen heruntergehen. „Fehlstellen" (Manipulationsfehler), die vereinzelt auftraten, sind nachgeimpft worden.

Aus technischen Gründen mußten die Knolleninfektionen im Verlauf des Winters zu verschiedenen Zeiten erfolgen. Es war deshalb notwendig, jeder neuen Infektionsserie einige Testknollen einer hochanfälligen Sorte, die mit einem hochaggressiven Stamm infiziert worden war (und deren Infektionsergebnis bereits bekannt war), beizugeben. Diese „Standardknollen" sollten erweisen, ob der mit zunehmendem Alter veränderte physiologische Zustand der Knollen eine Beeinflussung des Infektionsergebnisses zur Folge gehabt hatte. Eine große Anzahl zusätzlicher Infektionen sind auf diese Weise an Bintje und Primula mit Nr. 32, 38 und 59 ausgeführt worden.

Auch die Tomatenfrüchte erhielten je zwei Infektionsstellen. Für sie gilt dasselbe wie für die Kartoffel, ich konnte bei der großen Gleichmäßigkeit des Infektionserfolges mit zwei Früchten je Stamm und Sorte auskommen (vgl. hierzu Abb. 13).

Vergleichsweise im Laboratorium unter Batteriegläsern aufbewahrte Infektionen ergaben gegenüber offen im Gewächshause aufbewahrten vollkommen andere Symptome (vgl. Abb. 14).

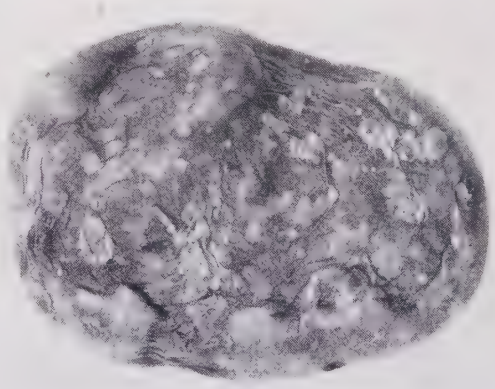


Abb. 15. Hartfäule (künstlich infiziert) nach elf Wochen; die drei zipfelartigen Infektionsstellen lassen sich noch erkennen

Zur Reisolierung des Erregers begnügte ich mich mit sterilisierten Filtrierpapierstreifen (in Röhrchen), die mit etwas Malzwasser getränkt waren. Nach Überimpfung entwickelte sich die typische Bernsteinfarbe.

Die ersten Anzeichen bei Kartoffelblattinfektionen können sich schon nach wenigen Tagen einstellen. Für gewöhnlich treten die Flecken vom fünften Tage an deutlich in Erscheinung. Der Pilz fruktifiziert zwischen dem 10. und 15. Tage, in Ausnahmefällen auch etwas früher.

Die Hartfäule der Knollen wird durch das Einsinken der Infektionsstellen sichtbar, was erst nach dem Abnehmen der Schalendeckel (nach dem zehnten Tage) der Fall ist.

Die Inkubationszeit bei Knollen war ziemlich konstant, mit einem späteren Einsetzen des Pilzwachstums war nicht mehr zu rechnen. Doch war das Wachstum des Pilzes in den hartfaulen Knollen nach Abschluß des Versuches deshalb nicht immer sistiert, wie Abb. 15 zeigt. Obgleich die drei Flecken ineinander übergegangen sind (die drei Infektionsstellen sind noch zu erkennen), blieb die Knolle vollkommen hart.

Bei Tomatenblättern zeigte sich der Infektionserfolg etwas später als bei der Kartoffel, an den Früchten in der Regel vom fünften Tage an.

Die nachstehende Tabelle 1 vermittelt einen Einblick in die Art der Pathogenitätsprüfungen. In ihr erscheinen die Einzelergebnisse sämtlicher Infektionen zusammengefaßt, in diesem Falle der Erregergruppe „Kartoffelblattstämme".

In derselben Weise wie für die Kartoffelblattstämme in Tabelle 1 sind die Infektionsergebnisse der anderen Erregergruppen (Kartoffelknollenstämme, Tomatenblatt- und Tomatenfruchtstämme) zusammengestellt worden. Auf eine Wiedergabe dieser Tabellen mußte aus Raummangel verzichtet werden.

Die Ergebnisse seien unter drei verschiedenen Gesichtspunkten besprochen.

b) Das Verhalten der Stämme

(1) Biotypen

Die Rassenbildung bei *A. solani* ist erstmalig von Bonde (1929) als Befürchtung ausgesprochen worden (vgl. S. 133). Die Beobachtung sprunghafter Veränderungen des Wachstums (saltations) seiner Pilzkulturen legte ihm den Verdacht nahe, daß sich auch „in der Natur" ähnliche Vorgänge abspielen könnten. Bei seinen Infektionsversuchen hatte er zunächst abgeschnittene Kartoffelfiederblättchen in Petrischalen und dann Kartoffelknollen durch Auflegen *Alternaria*-besiedelter Weizenkörner infiziert. Dabei hatte sich gezeigt, daß nur einer von seinen auf Kartoffelblättern geprüften Pilzstämmen imstande war, auch Kartoffelknollen zu infizieren. Eine Wiederholung des Versuches ergab dasselbe Resultat. Gerade dieser Stamm war auf Blättern nur schwach aggressiv gewesen.

Bonde schließt auf eine „relative Virulenz" bei *A. solani* und vermutet, daß in dem einen Falle nur Blätter, im anderen nur Knollen befallen werden.

Tabelle 1

Nr	Tom.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	B F	B K	B K	B K	B K	B K	B K	B K	B K	B K	B K
31	+	— —	(—) +		+ +	(+)		+ +	+		—
32	(+) +	+ +	+ +	+	+ +	+ (+)	+	+ +	+ +	+	+ —
36	+	+ —	+ +		+ +	+		+ (+)	—		(+)
37	—	— —	— —		+ +	—		+ (—)	—		—
46	(+) —	(—) —	(+) +	+	+ +	(+)	(+)	(+) +	+ —	(+)	—
49	—	— —	(—) (+)	—	(+) +	—	(—)	(+) +	—	(—)	—
50	+ +	+ +	+ +	+	+ +	+	(+)	+ +	(+)	+	—
53	—	(+) —	+ +		+ +	+		— —	(+)		—
54	(+) —	(—) —	(—) +		+ +			+ (+)	+		—
55	+	—			(+) +			+ —			—
59	+ +	+ —	+ +	+	+ +	(+)	+	+ +	+ +	+	(—)
68	+ —	— —	(—)	—	(—) +	—		+	+	(—)	—
77	+ +	+ —	+	+	+ +			(+)	(+) +	+	
79	⌜ +	+	+		+			+			

Zeichenerklärung (von links nach rechts)

1. Spalte: Nr. = Nummer des Pilzstammes;
2. Spalte: Tom. = Tomate (B = Blatt-, F = Fruchtinfektion; wegen der geringen Unterschiede der Sorten Frührot, Lukullus und Rheinland's Ruhm erscheinen die Ergebnisse zusammengefaßt);
3.—23. Spalte: Die laufenden Zahlen „1—21" bedeuten die geprüften Kartoffelsorten (der Buchstabe „B" und „K" Blatt- bzw. Knolleninfektion).

1 Ackersegen sp. 6 Erdgold msp. 11 Immertreu sp. 15 Oberarnbacher Frühe sfr. 18 Sieglinde fr.
2 Allerfr.Gelbe mfr. 7 Erstling sfr. 12 Johanna msp. 19 Toni mfr.
3 Aquila msp. 8 Flava mfr. 13 Merkur msp. 16 Primula sfr. 20 Vera sfr.
4 Bintje mfr. 9 Frühmölle sfr. 14 Mittelfrühe mfr. 17 „Sämlinge" 21 Voran msp.
5 Bona mfr. 10 Heida msp.

fr. = früh; sfr. = sehr früh; mfr. = mittelfrüh; msp. = mittelspät; sp. = spät.

Zeichenerklärung zur Bonitierung:

Kartoffelblatt:
+ typische Dürrflecken mit Konidien nach 10 bis 15 Tagen,
(+) schwach ausgeprägte Flecken, Konidienbildung mangelhaft,
(—) leicht angedeutete Veränderung des gesunden Blattes,
— kein sichtbares Zeichen von Befall.

Tabelle 1

11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	Nr.
BK	BK	BK	BK	BK	BK	BK	BK	BK	BK	BK	
—			—	(—) (—)		—	—	—			31
+ —	+	+	+ (+)	+ +	+ +	—	+ +	+ —	+	(+)	32
—			—	+ —							36
—			—	— +							37
(—)	(+)	+	—	(+) (+)	(+) +	—	(+) —	—		+	46
—			—	— —			(—) —				49
(—)	+	+	(+)	+ +	+		+	—			50
—			(+)	— —							53
—			(+)	—	+	(—)	—	—			54
—			—	—							55
—	+	+	(+)	+ +	+ +	+	+ +	+ +		+	59
—	+	—	—	—	+		(—) —	—		(+)	68
	+ (—)	+		+ —		(+)	+ +	—		+	77
											79

Die Bonitierung wurde mit dem Erscheinen der Konidien abgeschlossen, längstens nach drei bis vier Wochen. Jede Pflanze wurde mikroskopisch untersucht.

Kartoffelknolle:
+ typischer Hartfäulefleck nach vier Wochen, ⌀ 15 mm,
(+) gehemmtes Pilzwachstum, Fleck nach vier Wochen, ⌀ 7 mm,
(—) leicht angedeutete Veränderung der gesunden Knolle,
— kein sichtbares Zeichen von Befall.

Mit einem senkrechten Schnitt durch den Faulfleck wurde die Bonitierung nach vier Wochen abgeschlossen. Nach dieser Zeit begannen die Kartoffeln zu welken.

Tomatenblatt: wie bei „Kartoffelblatt" (siehe S. 152).

Tomatenfrucht:
+ typischer Faulfleck nach drei Wochen, ⌀ 30 mm,
(+) gehemmtes Pilzwachstum, Fleck nach drei Wochen ⌀ 10 mm,
(—) leicht angedeutete Veränderung der gesunden Tomate,
— kein sichtbares Zeichen von Befall.

Erstaunlicherweise ließ die Konidienentwicklung auf den Früchten, ganz im Gegensatz zu der in der Natur, im künstlichen Infektionsversuch sehr zu wünschen übrig.

Der „Blindversuch" als Kontrolle zu meinen Infektionen ist in der Tabelle nicht vermerkt worden; er verlief in allen Fällen negativ.

KLAUS (1941) hat die Beobachtung verschiedener Aggressivität zum Gegenstand weiterer Untersuchungen gemacht und ist zu derselben Auffassung wie BONDE gekommen.

Auch ZADINA (1949) ist der Meinung, daß der Grad der Widerstandsfähigkeit der Blätter mit dem der Knollen nicht übereinstimmen muß.

NEERGAARD (1945) bezieht sich in seinem Kapitel über *A. solani* auf die Infektionsrassen (Infective Races, S. 281) des Pilzes nach BONDE und KLAUS. Ihm ist es jedoch gelungen nachzuweisen, daß sich Rassen des Pilzes auch in der Wirtswahl unterscheiden können.

Er fand, daß die eine Rasse des Pilzes imstande war, sterile Sämlinge von *Capsicum annuum* und *C. globatum* zu befallen, die andere dagegen nicht. In vitro seien beide Rassen nicht voneinander zu unterscheiden gewesen. NEERGAARD gibt dieser Rasse einen eigenen Namen: *A. porri f. solani subf. capsici.*

Die Tatsache des Auftretens von Biotypen, wie sie von BONDE, KLAUS und NEERGAARD nachgewiesen worden war, hat durch meine Untersuchungen insofern eine wesentliche Ausweitung erfahren, als die Anzahl der voneinander verschiedenen Pilzstämme weit größer ist, als bisher vermutet werden konnte. Das zeigt Tabelle 2.

Tabelle 2

Verteilung der Biotypen

	I			II			III			IV			I - IV		%
	a	b	%	a	b	%	a	b	%	a	b	%	a	b	b
1.	13	8		5	3		5	5		3	3		26	19	73
2.	10	4		5	4		5	4		3	2		23	14	61
3.	14	11	79	8	5	63	14	7	50	16	9	63	52	32	62

Erläuterung zu Tabelle 2:

I	Kartoffelblattstämme	14
II	Kartoffelknollenstämme	8
III	Tomatenblattstämme	14
IV	Tomatenfruchtstämme	16
		52 St.

1. Prüfungen auf Blatt und Knolle gleichzeitig
2. Prüfungen auf Blatt allein
3. Prüfungen auf Knolle allein

a = Gesamtzahl der Stämme
b = Anzahl der Biotypen.

Aus der Prüfung auf Kartoffelknolle (3.) ergibt sich, daß die Neigung zur Biotypenbildung in allen Erregergruppen in gleicher Weise entwickelt ist. Die Prozentzahlen liegen innerhalb des Zufallsbereiches.

Wie die Zusammenfassung der vier Erregergruppen zeigt, ist es belanglos, ob die Biotypenprüfung auf Blatt und Knolle, auf Blatt oder auf Knolle allein vorgenommen wird, sofern nur das Testsortiment und die Anzahl der geprüften Stämme groß genug gewählt werden.

(2) Aggressivität

In den nachfolgenden Tabellen geben die Werte, soweit sie Prozentzahlen darstellen, den Anteil der erfolgreichen, in Tabelle 1 mit + und

(+) bezeichneten Fälle von der Gesamtzahl der durchgeführten Infektionen an.

Der statistischen Sicherung der Ergebnisse ist eine Überschreitungswahrscheinlichkeit von 1 % ($T > 2{,}56$) zugrunde gelegt. Oberhalb einer Überschreitungswahrscheinlichkeit von 5 % ($T < 1{,}96$) werden Abweichungen als zufallsbedingt angesehen. Die Berechnung von T wurde nach dem „strengen Differenzverfahren" (E. Weber, 1948, S. 154 und 160) vorgenommen.

Auf der Basis der Vorversuche hatten sich größere Unterschiede in der Aggressivität der Stämme und in der Anfälligkeit der Sorten ergeben. So erklärt es sich, daß verschiedene Pilzstämme auf zahlreichen Sorten bzw. eine große Anzahl von Pilzstämmen einer Sorte systematisch geprüft worden sind. In anderen Fällen wurden Stichproben für ausreichend erachtet, um Einblicke in das Verhalten zwischen Wirt und Parasit zu gewinnen.

Kartoffelblattstämme

Tabelle 3

Aggressivitätsprüfungen mit Kartoffelblattstämmen auf Blatt und Knolle der einzelnen Sorten

		Stämme													
		50	59	32	36	46	77	55	54	53	31	49	37	68	ø
a	%		94	100		75									90
	T		<	⊖		2,18									
			1,46	2,18		⊖									
b	%		92	100		75						42			73
	T		<	⊖		1,88						3,24			
			2,51	3,24		1,63						⊖			
c	%	100	90		80	80				50	50	50	40		71
	T	⊖	<	⊖	1,49	1,49				2,58	2,58	2,58	2,92		
		2,92	2,35	2,92	1,83	1,83									
d	%	100	94	89	80	75	75	75	63	50	50	42	40	17	70
	T	<	⊖	0,57	<	1,56	1,52	1,20	2,10	2,80	2,80	3,11	3,15	3,77	
		3,47	3,77	3,67	2,46	2,49	2,34	1,83	1,71	1,31	1,31	1,06	1,02	⊖	

Erläuterung: a = 3 Stämme auf den gleichen 8 Sorten
b = 4 „ „ „ „ 6 „
c = 9 „ „ „ „ 5 „
d = 13 „ „ „ „ 2—13 „

< = $T < 1{,}96$ (gilt auch für die nächsten Tabellen).
⊖ — gibt die Stelle an, von der aus der Vergleich geführt wurde.

Aus den gesicherten ($T = 2{,}56$) und den wahrscheinlichen ($T = 2{,}56$—$1{,}96$) Unterschieden bei Vergleich der einzelnen Stämme von einem aggressiven und einem wenig aggressiven Stamm aus lassen sich die Blattstämme in drei Gruppen zusammenfassen (Tabelle 4 und 5), wobei die erste Spalte die aggressiven und die zweite Spalte eine Gruppe intermediär aggressiver Stämme darstellen:

Tabelle 4

Zusammenfassung der Stämme nach Tabelle 3a—c

	32 = 50 = 59	36 = 46	49 = 53 = 31 = 37 = 68
%	98	77	45
T	2,80	⊖	2,58

Tabelle 5

Zusammenfassung der Stämme nach Tabelle 3d

	32 = 50 = 59	36 = 46 = 77 = 54	49 = 53 = 31 = 37 = 68
%	93	74	42
T	2,59	⊖	3,14

Bei Zerlegung der in Tabelle 3 mitgeteilten Befallsprozente nach Blatt und Knolle getrennt ergibt sich in beiden Fällen die gleiche Gruppierung, so daß auf die Wiedergabe verzichtet werden kann.

Die Gleichartigkeit der Verhältnisse kommt bei Betrachtung von „Blatt und Knolle" gegenüber Blatt und Knolle für sich allein in den Mittelwerten deutlich zum Ausdruck (Tabelle 6).

Tabelle 6

	Blatt und Knolle	Blatt allein	Knolle allein
a	90	96	83
b	77	79	75
c	71	73	69
d	70	76	65

Erläuterung: Zahlen = Befallprozente.

Die Zahlen zeigen gleichzeitig, daß in der Aggressivität der Stämme gegenüber Blatt und Knolle kein Unterschied besteht. Auch bei Vergleichen innerhalb des einzelnen Stammes treten keine signifikanten Differenzen auf. Demnach können Prüfungen auf Aggressivität ebensogut auf Knolle wie auf Blatt durchgeführt werden, wenn eine entsprechend große Anzahl von Sorten in diese Versuche einbezogen wird, da im einzelnen Fall ein Stamm gegenüber Blatt und Knolle der gleichen Sorte verschieden reagieren kann.

Faßt man bei dem Vergleich der Aggressivität der Stämme auf Blatt und Knolle diese in die Gruppen der Tabellen 4 und 5 zusammen, so ergeben sich nur bei der Zusammenfassung „nach d" in den ersten beiden Gruppen mit T = 2,16 bzw. 2,01 geringfügige Unterschiede. Diese können durch die Inhomogenität des Materials bedingt sein, da die Zusammenfassung im Gegensatz zu „a bis d" keine Rücksicht auf die Gleichheit der Sorten nimmt.

Kartoffelknollenstämme

Bei dieser Erregergruppe ergibt sich keine Möglichkeit, die auf Blatt und Knolle gleichzeitig geprüften Stämme (38, 65, 72, 74, 78) in Aggressivitätsgruppen zusammenzufassen, da die Anzahl der zur Prüfung benutzten Sorten zu klein ist. Bei den zwischen 67 und 88 % liegenden Befallswerten ist T übereinstimmend kleiner als 1,96. Lediglich für die Stämme 38 und 74, mit denen die gleichen neun bzw. acht Sorten infiziert worden sind, läßt sich aussagen, daß sie als hoch aggressiv anzusehen sind. Ihre Aggressivität ist wie bei den Blattstämmen innerhalb der Stämme gleich. Bei Zusammenfassung ist der Unterschied von 33 % zwischen der Aggressivität auf Blatt (mit 96 %) und Knolle (mit 63 %) gesichert (T = 3,01).

Damit ist am Beispiel der Blatt- und Knollenstämme gezeigt, daß der von Bonde nur in einem Falle geführte Nachweis einer wechselseitigen Pathogenität der Erregergruppen eine allgemeingültige Erscheinung darstellt. Bei den Knollenstämmen herrscht sogar der Eindruck ihrer größeren Aggressivität gegenüber Blättern vor.

Tomatenblattstämme, Tomatenfruchtstämme

In der ersten dieser beiden Erregergruppen sind fünf Stämme (51, 52, 63, 67, 73) auf je fünf Sorten geprüft worden, wobei ein mit T = 2,56 gesicherter Unterschied lediglich zwischen dem aggressiven Stamm 73 (67 %) und dem nichtaggressiven 63 (0 %) festzustellen war. Werden die auf Blatt und Knolle gleichzeitig geprüften Stämme an Hand aller Sorten verglichen, so ist 52 noch in eine Zwischengruppe einzureihen. Unterschiede in der Aggressivität auf Blatt und Knolle allein sind nur bei Stamm 52 (Blatt 0 %, Knolle 60 %, T = 2,07) vorhanden. In der Zusammenfassung aller Stämme ist kein Unterschied sichtbar (Blatt 32 %, Knolle 27 %).

Die Tomatenfruchtstämme, von denen drei (61, 62, 75) auf Blatt und Knolle bei zehn, vier bzw. fünf Sorten geprüft worden sind, lassen nach keiner Richtung einen Aggressivitätsunterschied erkennen. Die Befallsprozente liegen zwischen 50 und 90 bei einem T-Wert unter 1,96.

Als Schlußfolgerung ist festzustellen, daß innerhalb der Erregergruppen I (Kartoffelblattstämme) und III (Tomatenblattstämme) deutliche Aggressivitätsunterschiede der Stämme auftreten. Diese Feststellung ist innerhalb der beiden übrigen Erregergruppen nicht möglich, weil zu wenig Prüfungen ausgeführt worden sind. Die prozentualen Schwankungen sind indessen so groß, daß bei einer umfassenderen Untersuchung mit ähnlichen Verhältnissen gerechnet werden kann.

Vergleicht man die Aggressivität der einzelnen Erregergruppen auf Kartoffelknolle miteinander — zur Prüfung hierzu sind die Sorten 1, 2, 4, 7, 10 und 11 herangezogen worden —, so ergeben sich die Verhältnisse nachfolgender Tabelle:

Tabelle 7
Aggressivitätsvergleich der Erregergruppen I—IV (vgl. Tabelle 2) auf Kartoffelknolle

	I	II	III	IV
%	51	70	32	46
T	1,96	⊖	3,77	2,42
	2,36	3,77	⊖	1,67

Aus den T-Werten ist zu entnehmen, daß die Kartoffelstämme und die Tomatenstämme unter sich von gleicher Aggressivität sind und daß zwischen den beiden Gruppen II und III sichere und zwischen II und IV, II und I wahrscheinliche Unterschiede bestehen. Die Zusammenfassung aller Gruppen ergibt bei den Kartoffelstämmen 57 % und bei den Tomatenstämmen 39 % Befall bei einem T-Wert von 2,87.

Sehr viel deutlicher treten diese Unterschiede zutage, wenn die Resistenzgruppen (vgl. Tabelle 10 im nächsten Abschn.) miteinander verglichen werden.

Tabelle 8 zeigt dies für die anfälligen, Tabelle 9 für die widerstandsfähigeren Sorten:

Tabelle 8
Vergleich der Erregergruppen auf den anfälligen Sorten 2, 4, 7

	I	II	III	IV
%	88	96	48	52
T	⊖	1,09	3,92	3,67

Tabelle 9
Vergleich der Erregergruppen auf den widerstandsfähigeren Sorten 1, 10, 11

	I	II	III	IV
%	11	27	4	32
T	⊖	1,47	1,13	1,75

Nach Tabelle 8 ist die Virulenz innerhalb der Kartoffel- und der Tomatenstämme wiederum als gleich anzusehen, während zwischen den Kartoffel- und Tomatenstämmen eindeutig gesicherte Unterschiede bestehen (besonders bei der Zusammenfassung I und II bzw. III und IV in Erscheinung tretend; hier betragen die Befallsprozente der Kartoffelstämme 89 und die der Tomatenstämme 50, bei einem T-Wert von 5,13).

Die Kartoffelstämme sind also auf den Knollen anfälliger Sorten wesentlich aggressiver als Tomatenblatt- und -fruchtstämme.

Im Gegensatz hierzu sind Aggressivitätsunterschiede auf den resistenten Sorten bei Vergleich von den Kartoffelblattstämmen aus nicht zu verzeichnen. Die Tomatenblattstämme sind gegenüber den Tomatenfruchtstämmen durch einen T-Wert von 2,52 charakterisiert. Faßt man auch hier die Kartoffelstämme und die Tomatenstämme zusammen und stellt beide einander gegen-

über, so sind keine Unterschiede mehr vorhanden; erstere erreichen 15, letztere 17 % Befall.

Als Ergebnis ist festzustellen, daß sich die größere Aggressivität der Isolierungen von Kartoffelblatt und von Kartoffelknolle (Erregergruppen I und II) gegenüber den Tomatenstämmen (Erregergruppen III und IV) nur auf anfälligen Kartoffelsorten zeigt.

Zum sicheren Nachweis der Aggressivität eines Pilzstammes dürfen deshalb nur anfällige Sorten herangezogen werden, wie auch für experimentelle Untersuchungen mit dem Erreger diesen der Vorzug gegeben werden sollte.

(3) Resistenz

Für die Auswertung der in der Tabelle 1 verzeichneten Infektionsergebnisse im Hinblick auf die Widerstandsfähigkeit der Sorten seien die Verhältnisse bei den Kartoffelblattstämmen als Beispiel angeführt.

Hier sind (Tabelle 10) fünf Sorten mit den gleichen 9 Stämmen (Reihe a) und insgesamt acht Sorten mit 3—13 Stämmen (Reihe b) geprüft worden. Der statistische Vergleich ist, ähnlich wie bei der Aggressivität, von einer resistenten und von einer anfälligen Sorte aus geführt worden. Als Grenze der statistischen Sicherung einer Differenz ist wiederum die Überschreitungswahrscheinlichkeit von 1 % zugrunde gelegt worden.

Tabelle 10

Resistenzprüfungen einzelner Sorten mit Kartoffelblattstämmen auf Blatt und Knolle

		Sorten							
		4	16	8	7	2	18	15	1
a	%	100			83	78		56	39
	T	⊖			1,87	2,12		3,19	3,96
		3,96			2,71	2,36		1,02	⊖
b	%	96	100	88	82	75	58	55	33
	T	⊖	<	<	1,61	2,08	2,97	3,31	4,67
		4,67	3,07	2,70	3,36	2,78	1,44	1,47	⊖

Erläuterung: a = 5 Sorten geprüft mit den gleichen 9 Stämmen,
b = 8 „ „ „ 3—13 Stämmen.

Wie der Vergleich der einzelnen T-Werte miteinander erkennen läßt, sind die Sorten 4, 7, 8 und 16 zu einer Gruppe anfälliger und die Sorten 1, 15 und 18 zu einer Gruppe widerstandsfähiger Züchtungen zusammenzufassen.

Die Sorte 2 tendiert nach der Seite der anfälligen hin, wie sich aus einem Vergleich mit beiden Gruppen ergibt.

Werden die Blattstämme als Einheit betrachtet, so zeigen sich weder innerhalb der einzelnen Sorten noch in der gruppenmäßigen Zusammenfassung Unterschiede. In einzelnen Fällen kann die Reaktion von Blatt und Knolle verschieden sein. Für den Züchter werden jedoch nur Sorten von Interesse sein, bei denen sich Blatt wie Knolle als widerstandsfähig erweisen.

Wenn Resistenzprüfungen wahlweise auf Blatt oder Knolle durchgeführt werden sollen, so ist es aus Gründen der statistischen Sicherung der hierbei zu erwartenden Ergebnisse erforderlich, eine möglichst große Anzahl von Pilzstämmen für die Prüfungen heranzuziehen (vgl. S. 154 unten).

Vergleicht man die einzelnen Kartoffelsorten, so sind zwei Resistenzgruppen zu unterscheiden, zu denen einmal die Sorten 2 (Allerfr. Gelbe), 4 (Bintje), 7 (Erstling) mit insgesamt 67 % Befall und zum anderen die Sorten 1 (Ackersegen), 10 (Heida) und 11 (Immertreu) mit 16 % Befall — bei Prüfung mit Stämmen aus allen Erregergruppen, auch ohne Rücksicht auf deren Aggressivität — gehören.

Dieser Resistenzunterschied beider Gruppen bleibt auch innerhalb der ersten drei Erregergruppen erhalten; nur bei den Tomatenfruchtstämmen ist der Unterschied zwischen 52 % (bei der Sortengruppe 2/4/7) und 32 % (bei der Sortengruppe 1/10/11) nicht gesichert (vgl. hierzu Tabelle 8 u. 9).

Als Schlußfolgerung ergibt sich, daß Resistenzprüfungen mit Kartoffelknollen- oder Kartoffelblattstämmen durchzuführen sind, da diese beiden Erregergruppen aggressiver sind als Tomatenstämme[1]).

Der Nachweis, daß die Tomatenfruchtstämme mit den Kartoffelstämmen identisch sind, ist auf experimentellem Wege erbracht worden. Die eingangs gestellte Frage nach einer bestehenden Gefahr für den Kartoffelanbau beantwortet sich somit von selbst. Für die Umgebung von Bonn ist festzustellen, daß die Sporulation auf der Tomate zu spät einsetzt, um dem hiesigen Frühkartoffelanbau gefährlich werden zu können. Die Massenanbaugebiete der Tomate und der Pflanzkartoffel berühren sich im allgemeinen nicht.

VII. Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Die Symptome der bei der Kartoffel und Tomate durch *Alternaria solani* hervorgerufenen Krankheitserscheinungen, Dürrflecken der Blätter und Knollenfäule der Kartoffel bzw. Fruchtfäule der Tomate, werden eingehend beschrieben. Auf Grund eines besonders zuverlässigen Charakteristikums wird für die Knollenfäule der Name „Hartfäule" vorgeschlagen. Die Fruchtfäule der Tomate ist erstmalig genauer beschrieben, der für sie vorgeschlagene Name „Kelchendfäule" bezeichnet den Ausgangspunkt der Fäule.

2. Der gegenwärtige Spontanbefall durch *A. solani* ist in Feldbeobachtungen, vor allem im Rheinland und Teilen von Niedersachsen, untersucht worden, wobei die Kelchendfäule der Tomate besonders berücksichtigt worden ist.

3. 52 von Kartoffeln und Tomaten gewonnene Herkünfte des Pilzes, die für Kartoffel in Blatt- und Knollenstämme, für die Tomate in Blatt- und Fruchtstämme zusammengefaßt worden sind, wurden in vitro morphologisch

[1]) Herrn Dr. KOSSWIG, der mir bei der Auswertung meiner Pathogenitätsversuche wertvolle Hilfe gewährte, sei an dieser Stelle herzlichst gedankt.

und physiologisch untersucht. Hierbei wurde erstmalig eine Dauermyzelform von *A. solani* beschrieben und die Farbstoffbildung des Pilzes als diagnostisches Hilfsmittel sichergestellt; für die Charakterisierung des gelben Farbtones ist die Bezeichnung „Bernsteinfarbe" vorgeschlagen.

4. Für die vergleichenden Prüfungen der Stämme wurde eine Knolleninfektionsmethode entwickelt, die sich auch bei der Tomatenfrucht bewährt hat.

5. *A. solani* ist in zahlreiche Biotypen gespalten. Innerhalb der einzelnen Gruppen von Pilzstämmen besteht die gleiche Tendenz zur Aufspaltung. Im Mittel haben sich zwischen 62 und 73 % aller Stämme als voneinander verschieden erwiesen.

6. Innerhalb der einzelnen Pilzgruppen sind Stämme geringerer und größerer Aggressivität zu unterscheiden. Hinsichtlich der Herkunft des Stammes haben sich die von Kartoffel (Blatt und Knolle) stammenden Isolierungen gegenüber den Tomatenstämmen im Durchschnitt als aggressiver erwiesen, was besonders auf anfälligen Kartoffelsorten zu beobachten war.

7. 20 auf ihre Resistenz geprüfte Kartoffelsorten konnten in zwei Gruppen zusammengefaßt werden, von denen die eine mit 67 % Befall (Allerfr. Gelbe, Bintje, Erstling) als anfällige und die andere mit 16 % Befall (Ackersegen, Heida, Immertreu) als widerstandsfähige zu gelten hat.

Die Arbeit wurde mit Mitteln des Ministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten des Landes Nordrhein-Westfalen durchgeführt, dem auch an dieser Stelle für seine großzügige Unterstützung herzlich gedankt sei.

Literaturverzeichnis

Angell, H. R.: Purple Blotch of Onion (*Macrosporium porri* Ell.). Journ. Agr. Res. 38, 1929, S. 467—487.

Bonde, R.: Variation of strains of *Alternaria solani* isolated from lesions on potato tubers. Phytopathology 17, 1927, S. 56.

— —: Physiological strains of *Alternaria solani*. Phytopathology 19, 1929, S. 533—548.

— — and Libby, W. C.: Kartoffelkrankheiten. Maine Extension Bulletin 290, May 1940.

Brian, P. W. und Mitarbeiter: Alternaric Acid, a Biological Active Metabolic Product of the Fungus *Alternaria solani*. Nature 164, 1949, S. 534.

Folsom, D. and Bonde, R.: *Alternaria solani* as a cause of tuber rot in potatoes. Phytopathology 15, 1925, S. 282—286.

Goossens, J.: Alternaria droogrot van aardappelknollen. Tijdschr. over Plantenziekt. 39, 1933, S. 165—172.

Gratz, L. O. and Bonde, R.: Infection of potato tubers by *Alt. solani* in relation to storage conditions. Maine Agr. Exp. Stat. Bull. 187, 1927, S. 167—182.

Johansen, G.: Potato leaf spot disease (*Alternaria solani*). Statens plantepatologiske Forsøg, Maanedoversigt Nr. 295, 1948.

Klaus, H.: Untersuchungen über *Alternaria solani* Jones et Grout, insbesondere über ihre Pathogenität an Kartoffelknollen in Abhängigkeit von den Außenfaktoren. Phytopath. Zeitschr. 13, **1941**, S. 126—195.

Lüstner, G.: Krankheiten und Feinde der Gemüsepflanzen. Eugen Ulmer, Stuttgart, **1947**, S. 47.

McWhorter, F. P.: The early-blight diseases of Tomato. Virginia Truck Exp. Stat. Bull. 59, **1927**, S. 547—566.

Neergaard, P.: Danish species of Alternaria and Stemphylium. Taxonomy, Parasitism, Economical Significance. Kopenhagen **1945**.

Raabe, A.: Parasitische Pilze der Umgebung von Tübingen. Hedwigia 78, **1938**, S. 1—106.

Ramsey, G. B. and Link, K. K.: Market diseases of fruits and vegetables: Tomatoes, Peppers, Eggplants. US Dep. Agr. Misc. P. 121, **1932**, S. 1—44.

Rands, R. D.: Early-blight of potato and related plants. Wisc. Agr. Exp. Stat. Res. Bull. 42, **1917**, S. 1—48 (nach Klaus).

Reiling, H.: Züchterische Studie zur Dürrfleckenkrankheit der Kartoffel. Züchter 2, **1930**, S. 317—324.

Reinke, J. und Berthold, G.: Die Zersetzung der Kartoffel durch Pilze. Unters. Bot. Lab. Univ. Göttingen 1, **1879**, S. 1—100.

Richter, H.: Achtet auf die Dörrfleckenkrankheit der Tomaten! Blumen- u. Pflanzenbau 47, **1943**, Nr. 16.

Ridder, M.: Klimaregionen und -typen in Nordwestdeutschland. Beiträge z. Westfäl. Landeskunde, Geogr. Seminar Münster, **1935**.

Roth, H.: Die Dürrfleckenkrankheit (*Alternaria solani*) bei Kartoffeln. Dtsch. Ldw. Pr. 63, **1936**, S. 303—304.

Samuel, G.: *Macrosporium solani* on tomato fruit. Phytopathology 22, **1932**, S. 613—614.

Sorauer, P.: Auftreten einer dem amerikanischen Early-Blight entsprechenden Krankheit an den deutschen Kartoffeln. Z. f. Pflanzenkrankh. 6, **1896**, S. 1—9.

Thomas, H.: Effect of Nitrogen, Phosphorus and Potassium on Susceptibility of Tomatoes to *Alternaria solani*. Journ. Agr. Res. 76, **1948**, S. 289—306.

Viennot-Bourgin, G.: Les Champignons Parasites des Plantes Cultivées. II. Paris, **1949**, S. 1538.

Wollenweber, H. W.: Hyphomycetes in „Sorauer Handbuch der Pflanzenkrankheiten", III, **1932**, S. 577—819.

Zacha, V.: Contribution to the biology of the fungus *Alternaria porri f. solani* Neerg., especially in relation to the infection of potato tubers. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae, Brno, RCS. Facultas Agriculturae **1948**, Sign. C 44.

Zadina, J.: *Alternaria solani* (Vorkommen und Resistenzprüfungen). Bramborarstvi a Prumysl IX, **1949**, S. 121—125 (Tschechoslowakei).

Aus der Eidg. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau Wädenswil

Über die Eignung von *Penicillium expansum* für eine biologische Bekämpfung von Schwarzfußpilzen (*Rhizoctonia solani* Kühn)

Von

S. Blumer

Mit 6 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — I. Material und Methoden. — II. Anzeichen von antagonistischen Beziehungen in unserer Komposterde. — III. Die Wirkung von pilzlichen Stoffwechselprodukten auf die keimenden Samen. 1. *Rhizoctonia* und *Moniliopsis*. 2. *Penicillium expansum*. 3. Versuche mit Patulin. 4. Versuche mit *Trichoderma viride*. — IV. Wirkung von *Penicillium expansum* und *Trichoderma viride* auf andere Pilze. 1. Wirkung auf *Rhizoctonia* und *Moniliopsis*. 2. Wirkung der Kulturfiltrate von *Penicillium expansum* und von Patulin auf die Konidienkeimung von *Alternaria tenuis*. — V. Der Schwarzfuß als Symptom. — Diskussion. — Zusammenfassung. — Literatur.

Einleitung

Seit mehreren Jahren wurden an unserer Versuchsanstalt im Rahmen der Mittelprüfung Versuche zur Bekämpfung von pathogenen Bodenpilzen durchgeführt. Es konnte dabei festgestellt werden, daß die chemische Bodendesinfektion im Gartenbau höchstens für ganz spezielle Zwecke empfohlen werden kann, weil die Wirkung der meisten Bodendesinfektionsmittel bei starker Infektionsgefahr nicht ausreicht. Die Anwendungskonzentration kann meistens nicht wesentlich erhöht werden, weil dann Schädigungen an den Kulturpflanzen auftreten. Bei der wirksamsten Behandlung mit Formalin stellt die relativ lange Wartefrist bis zur Bepflanzung einen schwerwiegenden Nachteil dar. Durch Samenbeizung kann wohl das Auflaufen durch Reduktion des pre-emergence damping-off gefördert werden, aber auch diese Maßnahme wirkt bei starker Infektionsgefahr ungenügend, weil sie naturgemäß die späten Infektionen (Schwarzfuß, post-emergence damping-off) nicht bekämpfen kann. Eine Kombination von Samenbeizung und Bodendesinfektion mit chemischen Präparaten würde in den meisten Fällen auch bei starker Infektionsgefahr genügen, doch rechtfertigt sich für die Praxis ein derartiger Aufwand nicht.

Eine durchgreifende Wirkung gegen pathogene Bodenpilze ist nur von der physikalischen Bodendesinfektion (Bodendämpfung) zu erwarten. Durch

die Einwirkung der Hitze werden auch die Dauerformen der Pilze (Sklerotien) und vor allem die Unkrautsamen abgetötet. Wenn es sich aber darum handelt, größere Flächen im Freiland zu desinfizieren, so ist auch dieses Verfahren zu teuer. Es ist deshalb begreiflich, daß seit den Arbeiten von WEINDLING (21) und VAN LUIJK (12) immer wieder versucht wurde, die pathogenen Bodenpilze auf biologischem Wege durch ihre Antagonisten zu bekämpfen. Daß antagonistische Vorgänge bei der Pilzflora des Bodens eine bedeutende Rolle spielen, dürfte heute kaum mehr bezweifelt werden. Eine andere Frage ist es, ob es je gelingen wird, diese komplizierten Beziehungen zwischen den Mikroorganismen des Bodens für die Praxis nutzbar zu machen. Die bisherigen Ergebnisse sind auf alle Fälle nicht sehr ermutigend.

In den Jahren 1948—1951 führten wir zahlreiche Versuche mit pathogenen Bodenpilzen, besonders mit *Rhizoctonia solani* und ihren mutmaßlichen Antagonisten *Penicillium expansum* und *Trichoderma viride* durch. Da die Ergebnisse in keiner Weise den Erwartungen entsprachen, sollen sie hier nur in aller Kürze besprochen werden. In der Folge beschränkten wir uns auf Versuche in vitro, wobei die Wirkung der Stoffwechselprodukte dieser Pilze auf keimende Samen und auf andere Pilze im Vordergrunde stand. Meinen Mitarbeitern A. HARDER und J. KUNDERT, sowie unserem Obergärtner, Herrn F. SCHÜTZ, möchte ich für ihre Mithilfe bestens danken.

I. Material und Methoden

Die meisten Versuche wurden mit einem Stamm von *Rhizoctonia solani* durchgeführt, mit dem schon E. BOSCH (3) an unserer Versuchsanstalt gearbeitet hatte. Nach dem Ergebnis seiner Infektionsversuche gehört dieser Stamm zur Cruciferengruppe nach RICHTER und SCHNEIDER (16).

Der zweite Stamm wurde ebenfalls schon von E. BOSCH verwendet und von ihm als *Moniliopsis aderholdi* bezeichnet. Dieser Pilz zeichnet sich durch starke Bildung von Pseudosklerotien aus und unterscheidet sich auch in seinem kulturellen Verhalten sowie durch seine geringeren Wärmeansprüche. Zur Unterscheidung behalten wir in dieser Arbeit die Bezeichnung *Moniliopsis* bei, obwohl dieser Gattung nach THOMAS (18) und RICHTER (15) keine Daseinsberechtigung mehr zuerkannt wird.

Schließlich verwendeten wir in einigen Versuchen einen sehr rasch wachsenden Stamm von *Rhizoctonia solani*, der besonders für Erbsen hochgradig pathogen ist. Dieser Pilz wurde von unserem Kollegen Dr. H. FISCHER von Rebveredlungen isoliert.

Unser Stamm von *Penicillium expansum* wurde vom Centraalbureau voor Schimmelcultures in Baarn bezogen, während *Trichoderma viride* aus unserer Gartenerde isoliert wurde.

Für die Versuche im Laboratorium wurden alle Pilze in folgender Nährlösung kultiviert:

1 % Glukose, 0,15 % KH_2PO_4, 0,05 % $MgSO_4$, 0,05 % KNO_3, 0,05 % $(NH_4)_2SO_4$ (getrennt sterilisiert). — pH 5—5,2.

Für die Infektionsversuche in gedämpfter Komposterde wurden die Pilze auf zweimal sterilisiertem Torfmull mit Zusatz von Kalkwasser in Erlenmeyerkolben kultiviert. Wenn dieses Substrat vollständig durchwachsen ist, wird der Inhalt eines Kolbens (etwa 50 g) als Impfmaterial verwendet und möglichst gleichmäßig mit der oberen Erdschicht der Saatschalen vermischt. Bei einer Temperatur von ungefähr 20 ° C sind die Saatschalen nach drei bis vier Tagen etwa 2 bis 4 cm tief vollständig vom Pilz durchwachsen. Um diese Zeit werden die Schalen bepflanzt. Bei Kohlgewächsen kommen immer 100 Samen oder Keimpflanzen in eine Saatschale, bei Bohnen, Erbsen und Tomaten nur 50. Bei dieser Versuchsanlage erhielten wir im Gewächshaus im allgemeinen eine sehr gute Wirkung der Schwarzfußpilze. Für *Moniliopsis* genügte schon eine Temperatur von 15 bis 18 °, während die *Rhizoctonia*-Stämme erst bei Temperaturen von über 20 ° C gut wirkten.

Bei Aussaaten wurde zunächst die Auflaufkurve und damit der Ausfall durch pre-emergence damping-off ermittelt. Die Keimpflanzen wurden täglich auf Schwarzfuß (post-emergence damping-off) kontrolliert. Die Zahl der bei Abschluß des Versuches vorhandenen gesunden Pflanzen und ihr Frisch- oder Trockengewicht gibt ein gutes Maß für die Stärke der Infektion wie auch für die Wirkung von Bodendesinfektionsmitteln.

II. Anzeichen von antagonistischen Beziehungen in unserer Komposterde

Es ist allgemein bekannt, daß pathogene Bodenpilze in gedämpfter Erde viel stärkere Ausfälle verursachen als im natürlichen Boden (VAN LUIJK 13). Die Ursache dieser Erscheinung liegt wohl darin, daß sich die pathogenen Pilze stärker ausbreiten, wenn die in natürlichen Böden vorhandene Konkurrenz durch die autochthone Mikroflora sowie die Hemmung durch antibiotisch wirkende Stoffwechselprodukte wegfällt. Auch der durch die Bodendämpfung bewirkte Aufschluß von Nährstoffen kann unter Umständen die Entwicklung der pathogenen Pilze fördern.

Tabelle 1

Wirkung einer Bodenimpfung mit *Rhizoctonia solani* auf das Auflaufen und auf das Frischgewicht in gedämpfter und ungedämpfter Erde

Substrat	Blumenkohl		Rotkabis	
	Auflaufen %	Trockengewicht je Schale g	Auflaufen %	Trockengewicht je Schale g
Gedämpfte Erde	85	6,0	85	9,3
„ „ mit *Rhizoctonia*	12	0,4	55	2,0
Erde nicht gedämpft	78	5,9	88	9,5
„ „ „ mit *Rhizoctonia*	44	3,1	86	9,5

Wir konnten in zahlreichen Versuchen immer wieder feststellen, daß unsere *Rhizoctonia*-Stämme in gedämpfter Erde viel stärker wirken als in ungedämpfter Erde gleicher Herkunft. In Tabelle 1 sind die Mittelwerte für das Auflaufen und für das Trockengewicht je Saatschale aus zwei Versuchen mit je zwei Schalen zusammengestellt. Die durch *Rhizoctonia* verursachten Auflaufschäden sind bei Blumenkohl allgemein größer als bei Rotkohl. In ungedämpfter Erde wirkt sich die Infektion bei Rotkabis überhaupt nicht mehr aus, während in gedämpfter Erde auch bei dieser Pflanze bedeutende Ausfälle im Auflaufen und im Frischgewicht entstehen. Ähnliche Ergebnisse erhielt schon VAN LUIJK (13), der mit anderen Pflanzen arbeitete.

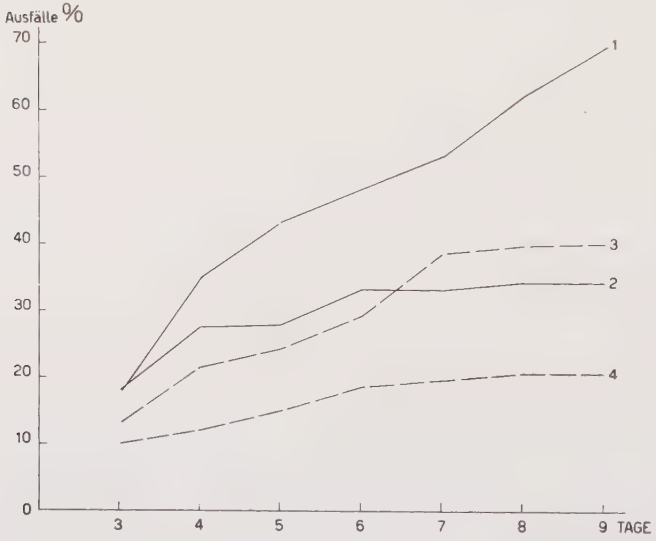


Abb. 1. Ausfälle durch Schwarzfuß bei Blumenkohl durch *Moniliopsis* (1 und 2) und *Rhizoctonia* (3 und 4). 1 und 3 in gedämpfter Erde, 2 und 4 in der gleichen Erde, ungedämpft

Auch die Ausfälle durch Schwarzfuß (post-emergence damping-off) sind in gedämpfter Erde bedeutend größer (Abb. 1). In ungedämpfter Erde steigen die Befallskurven nur unwesentlich an, d. h. die Infektion mit *Rhizoctonia* oder *Moniliopsis* wirkt sich kaum merkbar aus, während sich in gedämpfter Erde unter gleichen Bedingungen Ausfälle von 40 % bzw. 70 % ergeben.

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß in der von uns verwendeten Komposterde die pathogene Wirkung und wohl auch die Ausbreitung von *Rhizoctonia* und *Moniliopsis* durch die autochthone Mikroflora des Bodens stark reduziert wird. Es darf deshalb wohl angenommen werden, daß antagonistische Beziehungen zu anderen Bodenpilzen vorhanden sind. Dafür spricht auch das regelmäßige Auftreten von *Pyronema confluens* auf gedämpfter Erde. Dieser pyrophile Pilz trat gewöhnlich schon nach drei Tagen massenhaft auf, während er auf ungedämpfter Erde nie festzustellen war. Es scheint, daß er durch die native Mikroflora des Bodens unterdrückt wird. Gegenüber *Rhizoctonia* übt *Pyronema confluens* keine antagonistische Wirkung aus.

Als Antagonisten kamen vor allem *Trichoderma viride* und *Penicillium expansum* in Betracht. Beide Pilze wurden wiederholt aus unserer Komposterde isoliert. *Trichoderma* darf sogar als sehr häufig bezeichnet werden.

Diese beiden Pilze wurden nun gleich wie *Rhizoctonia* auf sterilem Torfmull vorkultiviert und dann gleichzeitig mit *Rhizoctonia* oder mit einem Vorsprung von ein bis sechs Tagen in die Saatschalen gebracht.

Einer der ersten Versuche ergab die in Tabelle 2 zusammengestellten Resultate.

Tabelle 2

Ausfälle bei Blumenkohl durch *Moniliopsis*, *Trichoderma* und *Penicillium expansum*

	gedämpfte Erde pH 6,6	gedämpfte Erde pH 5,5
Kontrolle (unbehandelt)	0	0
Moniliopsis	92 %	100 %
Trichoderma	0	12 %
Penicillium expansum	18 %	16 %
Moniliopsis + *Trichoderma*	0	12 %
Moniliopsis + *P. expansum*	100 %	100 %

Die Ergebnisse scheinen besonders für *Trichoderma* klar und eindeutig zu sein: Bei pH 6,6 kann der Befall mit *Moniliopsis* durch *Trichoderma* vollständig verhindert werden, und bei pH 5,5 ist eine deutliche Befallsverminderung von 100 % auf 12 % festzustellen. *Penicillium expansum* dagegen verursacht schon allein deutliche Keimungsausfälle und vermochte in diesem Versuche den Befall durch *Moniliopsis* nicht zu reduzieren. Der Versuch mit *Trichoderma* wurde nun mehrmals und mit allen möglichen Modifikationen wiederholt, doch gelang es später nie mehr, eine gesicherte antagonistische Wirkung nachzuweisen. Auch wenn Kulturfiltrate von *Trichoderma* und *Penicillium expansum* dem Boden beigefügt wurden, erhielten wir in keinem Falle eine gesicherte antagonistische Wirkung gegenüber *Rhizoctonia* oder *Moniliopsis*. Das Resultat unseres ersten Versuches ist übrigens schon deshalb verdächtig, weil *Moniliopsis* auch in ungedämpfter Erde Ausfälle verursachen kann (vgl. Abb. 1, Kurve 2), obwohl *Trichoderma* hier reichlich vorhanden ist.

Durchgeht man die reiche Literatur über die biologische Bekämpfung pathogener Bodenpilze, so kommt man zum Eindruck, daß das Rezept, dem Boden Kulturen von antagonistisch wirkenden Pilzen beizugeben, wohl etwas zu einfach ist. Es trägt der komplexen Natur des Bodens und seiner Mikroflora zu wenig Rechnung. Man kann nach Waksman (20) durch Bodenimpfung mit Antagonisten im besten Falle eine zeitlich begrenzte Wirkung erzielen. Auch wenn, wie in unserem Falle, deutliche Indizien für das Bestehen von antagonistischen Beziehungen im Boden vorhanden sind, so begegnet der exakte Nachweis doch großen Schwierigkeiten, und die Versuche sind wohl in den seltensten Fällen reproduzierbar.

III. Die Wirkung von pilzlichen Stoffwechselprodukten auf die keimenden Samen

1. Rhizoctonia und Moniliopsis

Nach BOOSALIS (2) entstehen auf Sojabohnen, die von *Rhizoctonia* befallen sind, nekrotische Flecken. Die Verfärbungen erstrecken sich auf fünf bis acht Zellschichten, die noch nicht vom Pilz durchwachsen sind. Der Pilz scheint das Gewebe zuerst abzutöten, bevor die Hyphen in die Zellen eintreten. Kulturfiltrate können auch ohne Pilzbefall die Keimung von Sojabohnen reduzieren, die Entwicklung der sekundären Wurzel hemmen und Nekrosen an Stengeln und Wurzeln verursachen. An Samen verschiedener Kohlarten versuchten wir durch Keimversuche in vitro die Wirkung der Stoffwechselprodukte der beiden Pilze festzustellen.

Die Pilze wurden in der auf Seite 164 angegebenen Nährlösung zehn bis 14 Tage kultiviert, dann wurde das Mycel abfiltriert, die Nährlösung mit NaOH wieder auf das ursprüngliche pH von 5 bis 5,2 eingestellt und durch Filtration keimfrei gemacht. Als Kontrolle wurde eine ungebrauchte Nährlösung von gleicher Zusammensetzung verwendet.

a) Wirkung der Kulturfiltrate auf die Samenkeimung

Die Samen verschiedener Kohlarten wurden zum Teil 24 Stunden in Wasser, ungebrauchter oder gebrauchter Nährlösung zum Quellen gebracht und hierauf in Feuchtschalen auf Filtrierpapier zur Keimung ausgelegt, wobei die gleichen Flüssigkeiten verwendet wurden wie für die Vorbehandlung (Quellung).

Ein Versuch mit Blumenkohlsamen ergab die in Tabelle 3 zusammengestellten Resultate:

Tabelle 3

Wirkung von gebrauchter Nährlösung (*Moniliopsis*) auf die Keimung von Blumenkohlsamen

Vorbehandlung (Quellung)	Keimung	Keimprozente nach 3 Tagen	Keimprozente nach 4 Tagen
Wasser	Wasser	73	91
ungebrauchte Nährlösung	Wasser	71	84
gebrauchte Nährlösung	Wasser	60	79
Wasser	gebrauchte Nährlösung	47	76

Ähnliche Ergebnisse erzielten wir mit gebrauchter Nährlösung von *Rhizoctonia*. Der Versuch zeigt, daß der Keimungsvorgang durch eine Vorbehandlung der Samen in gebrauchter Nährlösung und durch Auslegen der gequollenen Samen auf Filtrierpapier nicht wesentlich beeinflußt wird. Die Stoffwechselprodukte der beiden Pilze bewirken höchstens eine leichte Ver-

zögerung der Keimung, die jedoch bald wieder ausgeglichen wird. Auch bei Tomaten, Salat, Spinat und Erbsen ergab sich keine wesentliche Herabsetzung der Keimprozente durch die Stoffwechselprodukte von *Rhizoctonia* und *Moniliopsis*.

b) Wirkung der Kulturfiltrate auf das Wurzelwachstum

Schon die ersten orientierenden Versuche zeigten, daß sterile Filtrate von Nährlösungen, in welchen die beiden Schwarzfußpilze gewachsen waren, eine starke Hemmung auf das Wurzelwachstum ausüben. Die Wurzelhaare sind schlechter ausgebildet, und an der Hauptwurzel zeigt sich, besonders an

Tabelle 4

Wirkung von gebrauchter Nährlösung (*Moniliopsis*) auf das Wurzelwachstum

Nr.	Vorbehandlung (24 Stunden)	Keimung	Länge der Hauptwurzel in mm (Mittel)			
			Wirsingkohl	Blumenkohl	Tomaten	Erbsen
1	Wasser	Wasser	20,8	3,9	30,7	51,4
2	ungebrauchte Nährlösung	Wasser	25,1	4,5	38,1	52,9
3	gebrauchte Nährlösung	Wasser	15,9*)	2,7*)	14,1*)	44,2*)
4	Wasser	gebrauchte Nährlösung	16,5*)	2,5*)	9,7*)	35,0*)

*) Sicherung über 99 % gegenüber Nr. 1.

der Spitze, eine deutliche braune Verfärbung, die makroskopisch kaum von einer beginnenden *Rhizoctonia*-Infektion zu unterscheiden ist. Diese Schädigungen zeigen sich besonders deutlich, wenn die Samen auf Filtrierpapier zum Keimen ausgelegt werden, das mit gebrauchter Nährlösung befeuchtet ist (vgl. Tabelle 4 und Abb. 2).

Werden Pflänzchen der Nummern 3 und 4 in gedämpfte Erde ausgepflanzt, so gehen sie zugrunde oder entwickeln sich nur kümmerlich weiter. Die stärksten Schädigungen zeigten sich bei der Tomate, wo neben den Wurzelverfärbungen auch Verkrümmungen an Wurzel und Sproß auftraten. Wenn die Wurzelhaare bei den Tomaten überhaupt ausgebildet wurden, so waren sie filzig statt flaumig. Die an dieser Pflanze so ausgeprägten Hemmungserscheinungen sind besonders bemerkenswert, weil unser *Moniliopsis*-Stamm an Tomaten überhaupt keine Krankheitserscheinungen verursacht (Bosch 3). Die in den Nährlösungen gebildeten Stoffwechselprodukte stehen also mit der Pathogenität und der Spezialisation von *Moniliopsis* nicht im Zusammenhang. Es ist auch nicht nachgewiesen, daß sie im Boden überhaupt gebildet werden.

Da auch bei den anfälligen Kohlpflanzen die Keimung durch die Stoffwechselprodukte von *Rhizoctonia* und *Moniliopsis* nicht beeinflußt wird, darf

das pre-emergence damping-off nicht auf diese Substanzen zurückgeführt werden, sondern auf den parasitischen Angriff des Pilzes selbst. Erst nach erfolgter Infektion kommt die Wirkung toxischer Stoffwechselprodukte des Pilzes zur Geltung, die diesem eine perthophytische Lebensweise ermöglichen. Es ist möglich, daß sich der von BOOSALIS benutzte Stamm in dieser Hinsicht anders verhält, doch betont dieser Autor ausdrücklich, daß die Bildung von toxischen Substanzen von der Zusammensetzung der Nährlösung abhängig sei; auch aus seinen Versuchen darf nicht geschlossen werden, daß diese Stoffwechselprodukte im Boden überhaupt gebildet werden und daß sie für die Infektion von Bedeutung sind.

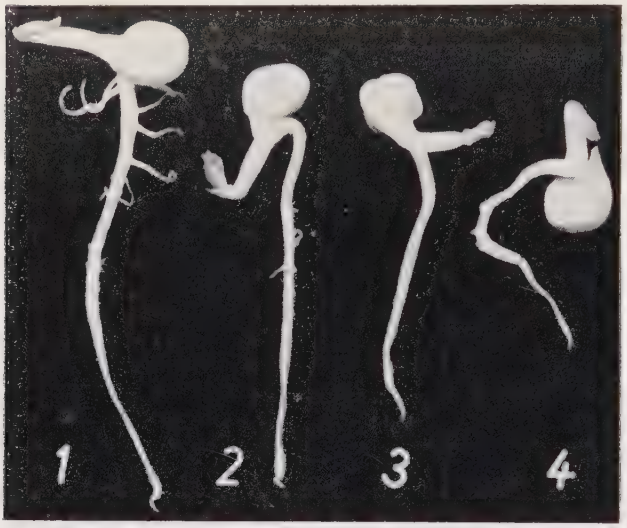


Abb. 2. Keimung und Wurzelbildung bei Erbsen (Numerierung wie in Tabelle 4)

2. Penicillium expansum

Eine Form von *Penicillium expansum* ist nach VAN LUIJK schon 1928 von MACHACEK als Antagonist zu *Sclerotinia fructicola* erkannt worden. VAN LUIJK selber wies nach, daß zwischen *Penicillium expansum* und *Pythium Debaryanum* ein ausgeprägter Antagonismus besteht. Das Kulturfiltrat von *P. expansum* wirkte in seinen Versuchen noch in Verdünnungen von 1 : 128 hemmend. JAARSVELD (11) beobachtete in Reagenzglaskulturen auf sterilem Sand eine antagonistische Wirkung von *Penicillium expansum* gegenüber *Rhizoctonia solani.* Wenn nach acht Tagen mit *Rhizoctonia* allein schon über 60 % der Kohlpflanzen umgefallen waren, zeigten die Mischkulturen der beiden Pilze zu dieser Zeit noch keine Krankheitserscheinungen. Hier setzte das damping-off erst nach zehn Tagen ein, aber auch bei Abschluß des Versuches, nach 16 Tagen war noch eine günstige Wirkung von *Penicillium expansum* festzustellen. In unseren Versuchen mit Kohlpflanzen in gedämpfter Erde konnten wir nur selten einen antagonistischen Einfluß von *Pencillium expansum* beobachten. Viel häufiger konnten wir eine Hemmung des Auflaufens durch diesen Pilz feststellen (Tabelle 2).

a) Wirkung der Kulturfiltrate auf die Samenkeimung

Nach VAN LUIJK (13) wirkt das Toxin von *Penicillium expansum* nicht nur auf Pilze, sondern auch auf höhere Pflanzen. JAARSVELD (11) beobachtete

in Kulturen auf sterilem Sand eine leichte Verzögerung und Reduktion der Keimung, die aber später mehr oder weniger ausgeglichen wurde. Dagegen war bei der Keimung auf Filtrierpapier kein deutlicher Einfluß von *Penicillium* festzustellen.

In unseren Versuchen, die in Tabelle 5 zusammengestellt sind, wurde die Wirkung von sterilen Filtraten gebrauchter Nährlösungen von *Moniliopsis* und *Penicillium expansum* sowie ihrer Mischung (1 : 1) verglichen. Wie in den früheren Versuchen wirkten diese Substanzen entweder bei der Vorbehandlung (Quellung) der Samen oder bei der Keimung auf Filtrierpapier. Die Keimungsprozente wurden für Blumenkohl nach vier Tagen, für Tomaten nach sieben Tagen und für Erbsen nach neun Tagen bestimmt.

Die Stoffwechselprodukte von *Moniliopsis* üben keinen hemmenden Einfluß auf die Samenkeimung aus (vgl. auch Tabelle 3). Eine Vorbehandlung mit gebrauchter Nährlösung von *Penicillium expansum* hemmt die Keimung bei Blumenkohl und bei Erbsen vollständig, dagegen ist sie bei To-

Tabelle 5

Wirkung steriler Kulturfiltrate auf die Samenkeimung

Nr.	Vorbehandlung	Keimung	Keimprozente		
			Blumenkohl	Tomaten	Erbsen
1	Wasser	Wasser	84	50	96
2	ungebrauchte Nährlösung	»	92	48	98
3	Kulturfiltrat von *Moniliopsis*	»	90	60	90
4	Kulturfiltrat von *Penicillium expansum*	»	0	58	0
5	Mischung von Nr. 3 u. 4	»	0	58	10
6	Wasser	Wasser	88	54	86
7	»	ungebrauchte Nährlösung	82	54	86
8	»	Kulturfiltrat von *Moniliopsis*	90	50	88
9	»	Kulturfiltrat von *Penicillium expansum*	4	2	30
10	»	Mischung von Nr. 8 u. 9	28	4	46
11	keine	Wasser	88	54	98
12	»	ungebrauchte Nährlösung	98	61	96
13	»	Kulturfiltrat von *Moniliopsis*	92	58	98
14	»	Kulturfiltrat von *Penicillium expansum*	20	0	14
15	»	Mischung von Nr. 13 u. 14	64	0	74

maten unwirksam. Werden die Samen mit Wasser vorbehandelt, so wirken die Stoffwechselprodukte von *Penicillium expansum* bei der Keimung schädlich auf Blumenkohl- und Tomatensamen, bedeutend weniger auf Erbsen. Fällt die Vorbehandlung überhaupt weg, so ist die Hemmung bei Tomaten ebenfalls vollständig. Es scheint also, daß hier die Schädigung erst im Zeit-

punkt der Keimung zustande kommt, während bei Blumenkohl und bei Bohnen die Behandlung während der Quellung stärker wirkt.

Die Mischung der gebrauchten Nährlösung beider Pilze wirkt lediglich wie eine stärkere Verdünnung des *Penicillium*-Filtrates.

Wurde die gebrauchte Nährlösung von *Penicillium expansum* im Autoklav bei 118° sterilisiert, so war die hemmende Wirkung auf die Keimung etwas schwächer als bei den kalt sterilisierten Filtraten, aber immerhin noch sehr deutlich nachweisbar (vgl. VAN LUIJK 13).

b) Wirkung der Kulturfiltrate auf das Wurzelwachstum

Die Stoffwechselprodukte von *Penicillium expansum* wirken meistens so stark, daß überhaupt keine Wurzelbildung einsetzt. Wo Wurzeln gebildet werden, sind diese stark verkrüppelt.

Die toxische Wirkung des Kulturfiltrates auf die Samenkeimung und auf die Wurzelbildung sind vermutlich auf die gleiche Substanz zurückzuführen. Filtrate aus jungen Kulturen zeigen nur unbedeutende Schädigungen. Die toxische Wirkung nimmt bis zum 11.—13. Tage zu, um dann bei längerer Kulturdauer wieder leicht abzunehmen.

Tabelle 6

Keimung und Wurzellänge bei Blumenkohl nach Vorbehandlung der Samen mit gebrauchter Nährlösung von *Penicillium expansum* bei verschiedener Kulturdauer des Pilzes

Vorbehandlung (24 Stunden)	Keimung nach 2 Tagen %	Keimung nach 4 Tagen %	Länge der Hauptwurzel nach 4 Tagen (Durchschnitt) mm
Wasser	91	95	10,7
ungebrauchte Nährlösung	88	94	14,9
Kulturfiltrate:			
Kulturdauer 3 Tage	86	91	12,0
„ 5 Tage	81	93	12,7
„ 7 Tage	67	82	11,4
„ 9 Tage	52	82	8,3
„ 11 Tage	3	16	5,5
„ 13 Tage	4	35	6,6
„ 15 Tage	4	54	7,5

Da die Säurebildung von *Penicillium expansum* in unserer Nährlösung in der Zeit vom 11. bis zum 13. Tage ein Maximum erreicht und nachher wieder leicht zurückgeht, ist es wahrscheinlich, daß die Abnahme der Wirksamkeit bei älteren Kulturen mit dem pH der Nährlösung im Zusammenhange steht.

Es sei hier noch erwähnt, daß eine andere *Penicillium*-Art, *Penicillium griseo-brunneum Dierckx* in der gleichen Nährlösung Stoffwechselprodukte bildet, die wohl das Wurzelwachstum, aber nicht die Samenkeimung hemmen. Dieser Pilz verhält sich also gleich wir unsere *Rhizoctonia*-Stämme.

3. Versuche mit Patulin*)

Es war ohne weiteres anzunehmen, daß es sich bei dem toxischen Stoffwechselprodukt in der Nährlösung von *Penicillium expansum* um Patulin handeln muß (Ettlinger 4). Dieses Antibioticum wird von verschiedenen Pilzen gebildet und hat einen sehr breiten Wirkungsbereich. E. Gäumann (5—9) und seine Mitarbeiter haben für zahlreiche Objekte nachgewiesen, daß Patulin ein starkes, unspezifisches Plasmagift mit einem weiten Wirtsspektrum ist. Es wirkt nach Ettlinger (4) auf grampositive und -negative Bakterien und setzt die Lumineszenz bei Leuchtbakterien herab. Patulin hemmt nach Smith (17) das Wachstum von zahlreichen parasitischen Pilzen, z. B. von *Pythium*-Arten, *Sclerotium Rolfsii, Rhizoctonia solani, Verticillium albo-atrum, Helminthosporium monoceras, H. gramineum, H. sativum, Ceratostomella pini.* Weniger empfindlich sind *Trichoderma viride* und *Botrytis cinerea.* Die Keimung der Konidien von *Penicillium expansum* wird durch Patulin unterdrückt. Das Antibioticum richtet sich also auch gegen seinen Erzeuger (Ettlinger 4). Nach Gäumann, Jaag und Braun (8) wirkt Patulin toxisch auf *Chlamydomonas* und *Paramaecium,* es hemmt die Plasmolyse bei *Spirogyra,* die Plasmaströmung bei *Elodea* und zerstört die Semipermeabilität der Plasmagrenzschichten bei Randen (*Beta vulgaris rubra).* Miescher (14) untersuchte die Wirkung von Patulin auf die Tomate, wo ein starker Welke-Effekt hervorgerufen wird. Dieses Symptom tritt als Folge von Patulinvergiftungen sehr häufig auf. „Wir kennen noch keine Blütenpflanze, die durch Patulin nicht zum Welken gebracht worden wäre" (Gäumann, St. Naef-Roth, Reusser und Ammann 9). Schrader (nach Wallenfels 19) zeigte ferner, daß Patulin auch hemmend auf die Samenkeimung der Gartenkresse (*Lepidium sativum*) wirkt.

Es ist also wohl kaum nötig, die Wirkung des Patulins auf weitere Organismen zu beweisen. Wenn wir trotzdem in dieser Richtung noch einige Versuche durchführten, so sollte damit lediglich die Frage aufgeworfen werden, ob die toxische Wirkung unserer Kulturfiltrate mit einiger Sicherheit auf Patulin zurückgeführt werden kann. Ferner stellt sich die Frage, ob grundsätzlich eine Bekämpfung pathogener Bodenpilze mit Hilfe antagonistisch wirkender Pilze, ihrer Stoffwechselprodukte oder mit Patulin möglich wäre. Dies käme für praktische Zwecke nur dann in Betracht, wenn diese Substanzen gegen die pathogenen Pilze bedeutend wirksamer wären als für die Samenkeimung und für die Entwicklung der jungen Pflanzen, mit anderen Worten, wenn der chemotherapeutische Index möglichst hoch wäre.

a) Wirkung von Patulin auf die Samenkeimung und auf das Wurzelwachstum

Die toxische Wirkung der Stoffwechselprodukte von *Penicillium expansum* geht aus den in den Tabellen 5 und 6 zusammengestellten Versuchen hervor.

*) Das Patulin wurde mir von Herrn Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich, in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt.

Für die weiteren Versuche verwendeten wir eine Stammlösung von 0,01 mol. Patulin, was einer Konzentration von 0,154 % entspricht (Verdünnung 0 in Tabelle 7). Die Blumenkohlsamen wurden in diesen Versuchen 24 Stunden mit Patulin vorbehandelt und dann in der Feuchtschale zur Keimung ausgelegt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 zusammengestellt. Sie stellen Mittelwerte von zwei Versuchen mit je 200 Samen dar.

Tabelle 7

Hemmung der Samenkeimung und des Wurzelwachstums durch Vorbehandlung (Quellung) von Blumenkohlsamen mit Patulin

Verdünnung	Patulin-Konzentration		Keimung nach 4 Tagen %	Länge der Hauptwurzel mm
	molar	mg/Liter		
0	10^{-2}	1540	1	0
1	$5 \cdot 10^{-3}$	770	5	7,2
2	$2{,}5 \cdot 10^{-3}$	385	7	4,1
3	$1{,}25 \cdot 10^{-3}$	192,5	56	9,0
4	$6{,}25 \cdot 10^{-4}$	96,25	88	11,0
5	$3{,}13 \cdot 10^{-4}$	48,13	87	16,5
6	$1{,}56 \cdot 10^{-4}$	24,06	91	17,6
7	$7{,}8 \cdot 10^{-5}$	12,03	91	19,1
Kontr.	0	0	92	18,1

Eine Vorbehandlung mit Patulin hemmt also bei Blumenkohl sowohl die Samenkeimung als auch das Wurzelwachstum, wie schon E. SCHRADER für die Samen der Gartenkresse festgestellt hat. Die Keimung wird etwas weniger stark beeinflußt als das Wurzelwachstum, obwohl die Wurzeln bei unserer Versuchsanordnung nicht mehr direkt unter der Einwirkung des Patulins stehen, sobald sie aus der Samenhülle herausgewachsen sind. Bei der niedrigsten Patulinkonzentration zeigt sich eine schwach ausgeprägte Stimulation des Wurzelwachstums. SMITH (17) beobachtete eine stimulierende Wirkung des Patulins auf gewisse Pilze, die sich in einer stärkeren Sporulation oder bei *Trichoderma* in einer vermehrten Pigmentbildung in niedrigen Giftkonzentrationen äußerte.

Die für die Hemmung der Samenkeimung und des Wurzelwachstums wirksamen Konzentrationen liegen ungefähr im gleichen Bereich wie sie GÄUMANN und VON ARX (7) für die Plasmolyse-Hemmung bei *Spirogyra* feststellten. Für den Randentest (GÄUMANN, ST. NAEF-ROTH, REUSSER und AMMANN 9) wird der Schwellenwert von 10^{-4} molar angegeben, was ebenfalls gut mit unseren Ergebnissen übereinstimmt.

4. Wirkung von *Trichoderma viride*

Sterile Filtrate der Nährlösung von *Trichoderma* bewirkten in unseren Versuchen mit verschiedenen Kohlpflanzen weder eine Hemmung noch eine Verzögerung der Keimung. Auch das Wurzelwachstum wurde nicht beeinflußt.

In Erdkulturen (Tabelle 2) erhielten wir mit *Trichoderma* im Gegensatz zu *Penicillium expansum* nie Ausfälle. Es liegen im Gegenteil in einigen Versuchen Anhaltspunkte vor, daß Pflanzen, die in steriler, mit *Trichoderma* beimpfter Erde gezogen wurden, etwas schneller aufliefen und daß das Frischgewicht der Pflanzen erhöht wird. Bei diesem Pilz wären also eigentlich die Voraussetzungen für eine praktisch verwendbare antagonistische Wirkung besser als bei *Penicillium expansum.* In vitro ist der hemmende Einfluß von Kulturfiltraten von *Trichoderma* auf *Moniliopsis* und *Rhizoctonia* sehr deutlich (vgl. S. 177). Dagegen erhielten wir in unserer Komposterde nie eine deutliche antagonistische Wirkung. Bosch (3) gelangte seinerzeit ebenfalls zu einem negativen Resultat, das durch unsere mehrfach wiederholten Versuche bestätigt wurde.

Dieses Ergebnis kann eigentlich nicht überraschen, da schon aus den ersten Arbeiten von Weindling (21) hervorgeht, daß die antagonistische Wirkung von *Trichoderma* nur unter bestimmten Bedingungen sichtbar wird, wobei besonders das pH der Kulturerde eine wichtige Rolle spielt. Anwar (1) fand, daß *Trichoderma lignorum* gegen *Helminthosporium sativum* eine starke antibiotische Wirkung zeigte, die jedoch in gedämpfter Erde nur noch ganz unbedeutend in Erscheinung trat und jedenfalls lange nicht an diejenige von *Bacillus subtilis* heranreichte.

IV. Wirkung von Stoffwechselprodukten von *Penicillium expansum* und *Trichoderma viride* auf andere Pilze

1. Wirkung auf *Rhizoctonia* und *Moniliopsis*

Sterile Kulturfiltrate von *Penicillium expansum* wirken auf beide Schwarzfußpilze toxisch. Bei dem in Tabelle 8 dargestellten Versuch wurde als Filtrat eine 17 Tage alte Kultur von *Penicillium expansum* verwendet. Es zeigte sich, daß schon ein Zusatz von 0,5 ccm Kulturfiltrat auf 30 ccm Nährlösung eine deutliche Reduktion des Trockengewichtes bedingt. Ein Vergleich mit den Hemmungen, die durch Patulin bedingt werden, ergibt, daß das verwendete Kulturfiltrat ungefähr 0,1 % Patulin enthielt, wenn man voraussetzt, daß kein anderer Hemmungsstoff gebildet wurde. Unser

Tabelle 8

Wirkung des Kulturfiltrates von *Penicillium expansum* auf das Wachstum von *Moniliopsis*

Zusatz von Kulturfiltrat	Mycelgewicht von *Moniliopsis*
0	57,3 mg
0,5 ccm	43,1 mg
1 ccm	34,5 mg
2 ccm	1,5 mg
5 ccm	0

Rhizoctonia-Stamm reagierte auf den Zusatz von Kulturfiltrat genau gleich wie *Moniliopsis*.

Auf S. 172 (Tabelle 6) wurde gezeigt, daß die hemmende Wirkung des Kulturfiltrates von *Penicillium expansum* vom Alter der Kultur abhängig ist. Bis zu einer Kulturdauer von elf Tagen zeigte sich eine zunehmende Hemmung der Keimung und des Wurzelwachstums, während ältere Kulturen von *Penicillium expansum* weniger wirksam waren. Wie aus Abb. 3 hervor-

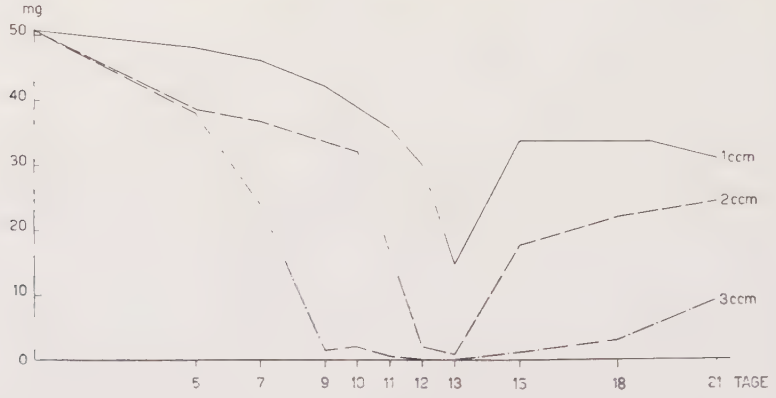


Abb. 3. Hemmung von *Moniliopsis* durch das Kulturfiltrat von *Penicillium expansum*

geht, ist auch die Wirkung des Kulturfiltrates auf das Wachstum von *Moniliopsis* stark von der Kulturdauer abhängig. In der Abszisse ist die Kulturdauer von *Penicillium expansum* eingetragen. Die Ordinate bezeichnet das Trockengewicht von *Moniliopsis* bei Zusatz von 1 bis 3 ccm Kulturfiltrat zu 30 ccm Nährlösung. Dieses wurde durch Zusatz von NaOH wieder auf pH 5 bis 5,2 eingestellt. Wird nur 1 ccm Kulturfiltrat beigefügt, so nimmt die hemmende Wirkung auf das Mycelgewicht von *Moniliopsis* bis zu einer Kulturdauer von 13 Tagen zu. Ältere Kulturen von *Penicillium expansum* wirken weniger hemmend. Werden 2 oder 3 ccm Kulturfiltrat beigefügt, so ist die Hemmung naturgemäß stärker, und sie tritt zeitlich früher in Erscheinung. Bei allen drei Konzentrationen nimmt die Toxizität bei längerer Kulturdauer von *Penicillium expansum* wieder ab. Es ist möglich, daß die toxische Substanz, also wahrscheinlich Patulin, durch die tiefen pH-Werte oder durch andere Stoffwechselprodukte von *Penicillium expansum* bei längerer Kultur inaktiviert wird.

Auch wenn für *Penicillium* und *Moniliopsis* Asparagin als N-Quelle verwendet wurde, zeigten sich ähnliche Beziehungen zur Kulturdauer, doch waren die Zusammenhänge weniger klar als bei unserer gewöhnlichen Nährlösung mit $KNO_3 + (NH_4)_2SO_4$.

Die Tatsache, daß die Stoffwechselprodukte von *Penicillium expansum* auf die Samenkeimung und auf das Wurzelwachstum von Kohlgewächsen in

gleicher Weise wirken wie auf *Moniliopsis*, läßt darauf schließen, daß es sich um die gleiche Substanz handelt. Es wurde deshalb auch die Wirkung von Patulin auf das Wachstum von *Moniliopsis* untersucht. Nach einer Kulturdauer von 18 Tagen wurden für verschiedene Konzentrationen von Patulin die in Tabelle 9 zusammengestellten Trockengewichte ermittelt. Es handelt sich dabei um Mittelwerte aus zwei Versuchen mit je sechs Kolben.

Tabelle 9

Wirkung von Patulin in verschiedenen Konzentrationen auf das Mycelgewicht von *Moniliopsis*

Verdünnung	Patulin-Konzentration molar	Trockengewicht mg
0	$1{,}1 \cdot 10^{-4}$	1,1
1	$5{,}5 \cdot 10^{-5}$	34,9
2	$2{,}75 \cdot 10^{-5}$	61,0
3	$1{,}37 \cdot 10^{-5}$	78,8
4	$6{,}69 \cdot 10^{-6}$	86,8
5	$3{,}35 \cdot 10^{-6}$	92,3
6	$1{,}67 \cdot 10^{-6}$	85,7
7	$8{,}35 \cdot 10^{-7}$	92,4
Kontr.	0	98,2

Ein Vergleich mit Tabelle 7 zeigt, daß der Schwarzfußpilz *Moniliopsis* gegenüber Patulin etwas empfindlicher reagiert als keimende Blumenkohlsamen. Es hätte keinen Wert, den chemotherapeutischen Index zu berechnen. Auch wenn dieser ziemlich hoch ist, wissen wir doch nicht, wie die Pflanze an ihrem natürlichen Standort auf Patulin reagiert, sofern diese Substanz im Boden überhaupt gebildet wird. Daß die Möglichkeit einer Schädigung von Kohlpflanzen durch *Penicillium expansum* besteht, geht aus unseren Versuchen in gedämpfter Erde mit Sicherheit hervor (vgl. Tabelle 2).

Für *Trichoderma viride* als Antagonist liegen die Verhältnisse wenigstens theoretisch bedeutend günstiger. Dieser Pilz verursacht an keimenden Kohlpflanzen in gedämpfter Erde keine Ausfälle. Sterile Kulturfiltrate von *Trichoderma* zeigten weder in Erde noch in vitro an den keimenden Pflanzen irgendwelche Hemmungserscheinungen. Dagegen wirken diese Kulturfiltrate sehr stark auf die Entwicklung von *Moniliopsis*. Schon die Zugabe von 0,1 ccm Filtrat einer 18 Tage alten Kultur von *Trichoderma* zu 30 ccm Nährlösung bewirkt eine Reduktion des Trockengewichtes von *Moniliopsis* um 11 %. Mit 0,5 ccm Kulturfiltrat beträgt das Mycelgewicht von *Moniliopsis* nur noch 30 %, und bei Zugabe von 2 ccm Kulturfiltrat wächst *Moniliopsis* nicht mehr. Trotzdem ergaben unsere Versuche in gedämpfter und ungedämpfter Komposterde keine sichere und reproduzierbare Wirkung von *Trichoderma*. Auch die Zugabe von sterilen Kulturfiltraten zum Boden konnte den Befall durch *Rhizoctonia* und *Moniliopsis* nicht herabsetzen.

2. Wirkung der Kulturfiltrate von *Penicillum expansum* und von Patulin auf die Konidienkeimung von *Alternaria tenuis*

Als wir vor vier Jahren die Versuche mit den Stoffwechselprodukten von *Pencillium expansum* durchführten, war es noch keineswegs sicher, daß es sich bei der toxischen Substanz wirklich um Patulin handelte. Unterdessen erschienen die Arbeiten von GÄUMANN und seinen Mitarbeitern, die zeigten, daß die unspezifische Wirkung als Zellgift wohl die auffälligste biologische Eigenschaft des Patulins darstellt. Um möglichst zahlreiche Indizien für die Natur der hemmenden Stoffwechselprodukte zu erhalten, wurden deshalb die Versuche mit Kulturfiltraten und später mit Patulin an verschiedenen Objekten wiederholt. Die Konidienkeimung von *Alternaria tenuis* (Stamm CIFERRI), die in unserem Labor zur Ermittlung der fungiziden Wirkung von Kupferpräparaten verwendet wird, eignete sich auch für diese Versuche gut und ermöglichte eine quantitative Bestimmung der wirksamen Stoffwechselprodukte.

Aus Tabelle 10 geht hervor, daß Patulin in verschiedenen Konzentrationen eine quantitative Wirkung auf die Keimung von *Alternaria* ausübt. Als Ausgangspunkt diente eine 0,01 molare Lösung, die nach den Ergebnissen von Vorversuchen die Keimung vollständig hemmte.

Tabelle 10

Keimungsausfall bei Konidien von *Alternaria tenuis* bei verschiedenen Patulin-Konzentrationen

Verdünnung	Patulin-Konzentration molar	Keimungsausfall %
0	10^{-2}	100
1	$5 \cdot 10^{-3}$	99
2	$2{,}5 \cdot 10^{-3}$	97
3	$1{,}25 \cdot 10^{-3}$	97
4	$6{,}25 \cdot 10^{-4}$	90
5	$3{,}12 \cdot 10^{-4}$	39
6	$1{,}56 \cdot 10^{-4}$	24
7	$7{,}8 \cdot 10^{-5}$	14
8	$3{,}9 \cdot 10^{-5}$	15
9	$1{,}95 \cdot 10^{-5}$	6
Wasser		7

Der LD_{50}-Wert liegt nach diesem Versuch bei einer Patulinkonzentration von $3{,}47 \cdot 10^{-4}$ mol. Bis zu 10^{-3} mol. wird die Keimung fast vollständig gehemmt, und bei Verdünnungen unter $2 \cdot 10^{-5}$ ist keine Wirkung mehr festzustellen.

Da wir nun den LD_{50}-Wert für die Keimung von *Alternaria* kennen, besteht die Möglichkeit, den Patulingehalt unserer Kulturfiltrate von *Penicillium expansum* zu berechnen, unter der Annahme, daß hier Patulin als einziges wirksames Toxin vorkommt. Wir wissen aus früheren Versuchen mit Blumenkohl und *Moniliopsis*, daß sich das Toxin bis ungefähr zum zwölften Tage in den Kulturfiltraten anreichert, daß aber von diesem Zeit-

Tabelle 11

Keimungshemmung bei Konidien von *Alternaria tenuis* in Filtraten von *Penicillium*-Kulturen verschiedenen Alters

Verdünnung	Konzentration %	Kulturdauer von *Penicillium expansum* in Tagen									
		5	7	9	10	11	12	13	15	18	21
5	3,125	2	3	2	4	5	4	2	4	3	3
4	6,25	4	2	12	13	17	15	33	10	9	4
3	12,5	5	4	22	23	21	42	40	16	16	7
2	25	7	6	26	41	41	85	49	53	56	41
1	50	7	28	67	73	92	95	93	90	94	91
0	100	79	99	98	99	97	99	97	99	99	98
Durchschnittliche Hemmung in %		17,3	23,7	37,8	42,3	45,5	**55**	52,3	45,3	46,2	40,7

punkt an die Wirkung wieder abnimmt. Für unseren Versuch mit *Alternaria* wurden Filtrate von 5 bis 21 Tage alten *Penicillium*-Kulturen verwendet. Als Ausgangspunkt für die Keimungsversuche diente das Filtrat selbst (Verdünnung 0 in Tabelle 11). Von diesem wurden Verdünnungen bis 1 : 32 (Verdünnung 5) hergestellt. Die Keimung der *Alternaria*-Konidien wurde nach 24 Stunden ausgezählt, und zwar in vier Tropfen zu je 50 Konidien. In Wasser und in ungebrauchter Nährlösung betrug die Zahl der nicht gekeimten Konidien 6 bzw. 5 %. Die Keimfähigkeit betrug also 94 bis 95 %. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tabelle 11 zusammengestellt.

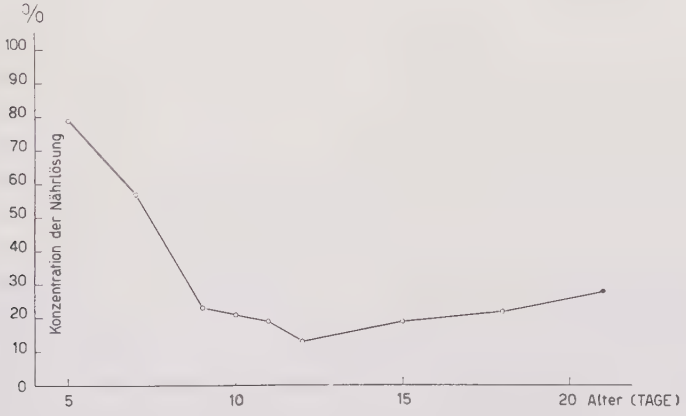


Abb. 4. LD_{50}-Werte für die Wirkung der Kulturfiltrate von *Penicillium expansum* auf die Konidienkeimung von *Alternaria tenuis*

Die Einzelwerte in Tabelle 11 stellen also die prozentualen Ausfälle (Keimungshemmung) dar. Berechnet man den Durchschnitt des Keimungsausfalles, so bemerkt man schon, daß die Hemmung bis zu einer Kulturdauer von zwölf Tagen zunimmt. Filtrate von älteren Kulturen sind wieder weniger toxisch. Das gleiche Bild erhält man, wenn man die LD_{50}-Werte für jede Kulturdauer berechnet (Abb. 4). Die einzelnen Punkte dieser Kurve bezeich-

nen die Konzentration des Filtrates, die notwendig ist, um 50 % der *Alternaria*-Konidien an der Keimung zu verhindern. Je tiefer die Kurve in Abb. 4 sinkt, um so geringere Konzentrationen des Kulturfiltrates sind für eine 50 %ige Hemmung der Keimung notwendig, um so höher muß also der Gehalt an toxischer Substanz (Patulin) sein.

Für die hemmende Wirkung auf die Samenkeimung und das Wurzelwachstum von Blumenkohl (Tabelle 6) erhielten wir das Maximum bei einer Kulturdauer von elf Tagen. Das Mycelwachstum von *Moniliopsis* wurde je nach der verwendeten Konzentration durch Filtrate von 11 bis 13 Tage alten Kulturen am stärksten gehemmt. Schließlich erhielten wir für die Konidienkeimung bei *Alternaria* bei zwölf Tage alten Kulturen die stärkste Hemmung. Aus dieser Übereinstimmung kann geschlossen werden, daß die Wirkung der toxischen Substanz durchaus unspezifisch ist, wie dies für Patulin wiederholt nachgewiesen wurde (GÄUMANN und Mitarbeiter).

Unter der Voraussetzung, daß in den Kulturfiltraten von *Penicillium expansum* Patulin allein toxisch wirkt, soll schließlich versucht werden, den Patulingehalt unserer Filtrate rechnerisch zu bestimmen. Nach Tabelle 10 erhielten wir für die Konidienkeimung von *Alternaria* einen LD_{50}-Wert von $3{,}47 \cdot 10^{-4}$ molar Patulin. Dies entspricht einer Konzentration von 53,438 mg Patulin im Liter. Für den in Tabelle 11 dargestellten Versuch erhalten wir auf diese Weise folgende Patulinkonzentrationen (Tabelle 12).

Tabelle 12

Patulingehalt in Kulturfiltraten verschiedenen Alters von *Penicillium expansum*

Alter des Filtrates Tage	LD_{50}-Wert (Konzentration) %	berechneter Patulingehalt	
		molar	mg im Liter
5	79	$4.39 \cdot 10^{-4}$	67,7
7	57,4	$6{,}04 \cdot 10^{-4}$	93
9	22,7	$1{,}53 \cdot 10^{-3}$	236
10	21,2	$1.64 \cdot 10^{-3}$	252,7
11	18,5	$1{,}87 \cdot 10^{-3}$	288,3
12	13,4	$2.59 \cdot 10^{-3}$	399
13	16.1	$2{,}16 \cdot 10^{-3}$	332,7
15	18,5	$1{,}87 \cdot 10^{-3}$	288,3
18	21,7	$1{,}6 \cdot 10^{-3}$	246,3
21	28,0	$1{,}24 \cdot 10^{-3}$	191

Der von uns verwendete Stamm von *Penicillium expansum* bildete also in unserer Nährlösung bis zu rund 400 mg Patulin im Liter. Diese Konzentration reduziert die Keimung von Blumenkohl auf etwa 7 %, und auch das Wurzelwachstum wird stark gehemmt (Tabelle 7). Auch wenn nicht anzunehmen ist, daß der Pilz im Boden auch nur annähernd soviel Patulin bildet, so ist doch eine schädigende Wirkung auf Kohlpflanzen im Bereiche der

Möglichkeit. Es ist deshalb unwahrscheinlich, daß *Penicillium expansum* für die biologische Bekämpfung von pathogenen Bodenpilzen in Frage kommen kann.

V. Der Schwarzfuß als Symptom

Werden die Keimpflanzen erst von *Rhizoctonia* oder anderen Pilzen befallen, nachdem sie die Bodenoberfläche schon durchbrochen haben, so wird das Krankheitsbild als Schwarzfuß (post-emergence damping-off) bezeichnet. Es handelt sich dabei um eine Einsenkung des Rindengewebes am hypokotylen Stengelglied mit nachfolgender Bräunung oder Schwärzung des Gewebes an der Bodenoberfläche. Bei Kohlpflanzen nimmt die Anfälligkeit gegenüber *Rhizoctonia* und *Moniliopsis* rasch ab, d. h. nur junge Gewebe können befallen werden.

Das als Schwarzfuß bezeichnete Krankheitsbild ist ein unspezifisches Symptom. Auch durch nichtparasitäre Störungen kann am Grunde des Stengels oder am Hypokotyl eine Einschnürung mit Verfärbung entstehen. Diese Übergangsstelle wird naturgemäß mechanisch stark beansprucht, und es entstehen dort oft kleine Wunden in der Epidermis oder auch nur Ritzungen der Kutikula. Nach H. Wartenberg (Sorauers Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Bd. 1, 1. Teil, S. 523) vermutete schon Hartig, daß bei Fichten- und Tannensämlingen durch Ausdehnung der wasserreichen obersten Bodenschicht eine mechanische Zerquetschung des Kambiums eintreten könne. Dadurch entstehen an der Stengelbasis die für den Schwarzfuß typischen Einschnürungen. Hartley (10) konnte nachweisen, daß bei Keimpflanzen von Koniferen ähnliche Erscheinungen als Folge von Hitze entstehen. Im Gegensatz zu dem durch Pilze verursachten Schwarzfuß bleiben diese Einschnürungen hell, und es erfolgt keine nachträgliche Ausdehnung nach unten oder oben. Bei den durch Hitze verursachten Einschnürungen tritt keine Unterbrechung der Wasserleitung und auch keine Welke auf. Ähnliche Symptome entstehen bei verschiedenen Pflanzen auf hartem verkrustetem Boden, besonders bei hohen Lufttemperaturen.

Wird an der Bodenoberfläche durch die Bewegung der jungen Pflanzen der Wachsüberzug des Stengels geritzt, so besteht die Möglichkeit, daß Schwarzfußpilze wie *Rhizoctonia* eindringen können. Unter der Einwirkung des Pilzes oder seiner Stoffwechselprodukte (Boosalis 2) kollabieren die Rindenzellen und schrumpfen ein. Im Gegensatz zum nicht parasitären Schwarzfuß verfärbt sich das Gewebe braun bis schwarz, was offenbar auf die Wirkung von oxydierenden Substanzen zurückgeführt werden kann.

Wir führten in dieser Richtung einige Versuche mit Blumenkohl, Radieschen (*Raphanus sativus* L., var. *major* Voss) und Rettich (*Raphanus sativus* L., var. *radicula DC.)* durch. Die Samen wurden oberflächlich sterilisiert, dann in sterilen Feuchtschalen zum Keimen ausgelegt. Sobald die Wurzeln eine Länge von etwa 3 cm erreicht hatten, wurden die Pflänzchen in Knop'scher Nährlösung weiter kultiviert, wobei das Hypokotyl auf eine hori-

zontale Aluminiumplatte gelegt wurde. Ein Stück Watte wurde mit der zu prüfenden Substanz getränkt und auf das Hypokotyl aufgelegt. Es zeigte sich zunächst, daß Kulturfiltrate unserer *Rhizoctonia*-Stämme sowie von *Penicillium expansum* auf dem unverletzten Hypokotyl unserer Versuchspflanzen nie Schwarzfuß erzeugten. Wurde dagegen das hypokotyle Stengelglied mit einer erhitzten Nadel oder durch leichtes Reiben mit Karborund mechanisch verletzt, so konnte mit verschiedenen Kulturfiltraten Schwarzfuß erzeugt werden. Dies gelang auch durch Vorbehandlung mit Chloroform oder Aether. Im einzelnen erhielten wir in diesen Versuchen folgende Ergebnisse:

Die Vorbehandlung mit Chloroform verursachte bei allen drei Versuchspflanzen eine deutliche Einsenkung des Rindengewebes, aber keine Ver-

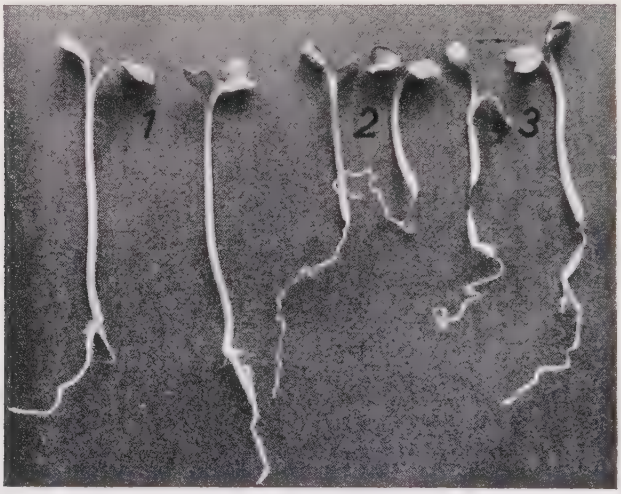


Abb. 5. Wirkung des Kulturfiltrates von *Rhizoctonia* auf das hypokotyle Stengelglied (1). Chloroform (2). Kulturfiltrat nach Vorbehandlung mit Chloroform (3)

färbung (Abb. 5, Nr. 2). Das Längenwachstum des Hypokotyls wurde schon durch die Vorbehandlung mit Chloroform stark reduziert. Bei Nachbehandlung mit sterilem Kulturfiltrat von *Rhizoctonia* war die Einschnürung in den meisten Fällen noch stärker ausgeprägt, sie reichte oft bis an den Zentralzylinder. Er traten mehr oder weniger deutliche Nekrosen auf, die sich später strichförmig verlängerten, wenn das Längenwachstum weiter andauerte. Die Symptome unterschieden sich in keiner Weise vom eigentlichen, durch Pilze erzeugten Schwarzfuß. Filtrate von älteren Kulturen waren wirksamer als solche von jungen.

Penicillium expansum ist nicht als Schwarzfußerreger bekannt. In unseren Versuchen konnten wir mit diesem Pilz wohl Auflaufschäden (pre-emergence damping-off), aber nie Schwarzfuß erzeugen, auch wenn sehr stark

beimpft worden war. In vitro dagegen wirkte das Kulturfiltrat von *Penicillium expansum* bedeutend stärker als diejenigen von *Rhizoctonia* und *Moniliopsis*. Auch ohne Vorbehandlung mit Chloroform oder Aether und ohne mechanische Verletzung des Hypokotyls traten gelegentlich schwache Einschnürungen auf. Nach Vorbehandlung oder Verletzung waren starke Einsenkungen des Rindengewebes und braunschwarze Verfärbungen festzustellen. Die Wirkung war so stark, daß sich die Pflänzchen meistens nicht mehr weiterentwickelten. Auch hier waren Filtrate von 12- bis 14tägigen Kulturen am wirksamsten.

Gäumann (6) führt aus, daß bei Patulin eine gewebespezifische Wirkung besteht. Dieses Toxin schädigt besonders die Stengel, Blattstiele und die Blattnerven. Es lag deshalb nahe, die starke Wirkung der Kulturfiltrate

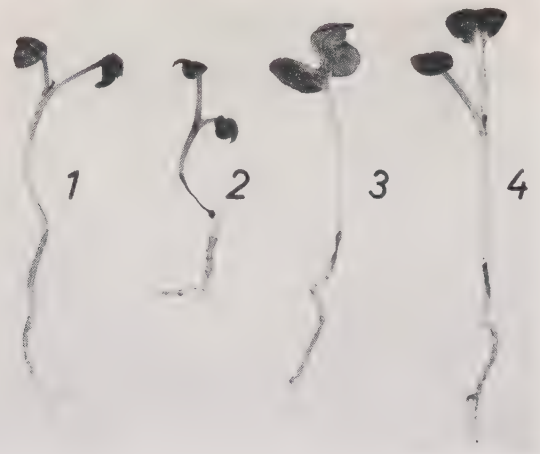


Abb. 6. Durch Patulin erzeugter „Schwarzfuß".
1 = unbehandelt, 2 = $1{,}25 \cdot 10^{-3}$ mol. Patulin,
3 = $6{,}25 \cdot 10^{-4}$ mol., 4 = $1{,}6 \cdot 10^{-4}$ mol.

von *Penicillium expansum* auch hier auf Patulin zurückzuführen. In einem Versuch mit Rettich konnten wir auch eine deutliche quantitative Wirkung des Patulins beobachten. Die einheitlichste Wirkung und das schönste Krankheitsbild erhielten wir bei einer Patulinkonzentration von ungefähr 10^{-3} molar (vgl. Abb. 6, Nr. 2) nach vorheriger leichter mechanischer Verletzung mit Karborund. Gegenüber der nur verletzten Kontrolle (Nr. 1) ist bei dieser Patulinkonzentration auch eine starke Reduktion des Längenwachstums festzustellen. Bei abnehmender Konzentration des Patulins verliert sich die Wachstumshemmung, während die Einschnürung und Verfärbung des Hypokotyls bis zu einer Patulinkonzentration von 10^{-4} molar festzustellen ist. Stärkere Konzentrationen von Patulin (10^{-2} molar) verursachen eine sofortige Erschlaffung des Gewebes.

Das Symptom „Schwarzfuß" läßt sich auch durch zahlreiche andere Substanzen mehr oder weniger deutlich erzeugen. So konnten wir mit einem Enzympräparat (Pektasin A) ähnliche Erscheinungen beobachten, wobei es vorläufig dahingestellt bleiben muß, ob es sich hier wirklich um eine enzymatische Wirkung handelt. Gelegentlich konnte mit unserer ungebrauchten Nährlösung, die zur Kultur von *Rhizoctonia* und *Penicillium* diente, ebenfalls ein schwacher Schwarzfußeffekt hervorgebracht werden. Der Schwarzfuß ist als eine Reaktion der Pflanze aufzufassen, die ebensowenig spezifisch ist wie die Schrotschuß-Reaktion bei *Prunus*-Arten (GÄUMANN 5). Sie ist in erster Linie durch die Empfindlichkeit des Rindengewebes bei jungen Pflanzen bedingt. Da die Übergangsstelle vom Boden zur Luft naturgemäß mechanischen Verletzungen ausgesetzt ist, stellt sie für die Pflanze den locus minoris resistentiae dar.

Diskussion

In den letzten zwanzig Jahren wurde das Problem der Antibiose zwischen bodenbewohnenden Mikroorganismen von zahlreichen Forschern bearbeitet. Im Hintergrund dieser Untersuchungen stand immer wieder die Frage der biologischen Bekämpfung pathogener Bodenpilze durch ihre Antagonisten. Aus den zusammenfassenden Arbeiten von WAKSMAN (20), ETTLINGER (4) und von WEINDLING, KATZNELSON und BEALE (22) geht deutlich hervor, wie kompliziert diese Probleme sind und wie weit wir noch von einer praktischen Anwendung entfernt sind. Wenn auch gelegentlich eine biologische Bekämpfung durch Antibiose erreicht wurde, so waren derartige Versuche doch selten reproduzierbar, und nur in Spezialfällen wurden Ergebnisse erzielt, die auch für die Praxis verwendbar waren. In den meisten Fällen handelte es sich um einen momentanen Erfolg der biologischen Bekämpfung von pathogenen Bodenpilzen. Gelegentlich wurden die in künstlichen Nährsubstraten auftretenden antagonistischen Beziehungen zwischen Mikroorganismen etwas voreilig verallgemeinert, wobei man die viel komplizierteren Verhältnisse im Boden zu wenig berücksichtigte. Auch wenn gewisse Bodenpilze oder ihre Stoffwechselprodukte unter natürlichen Bedingungen wirksam sind, so ist diese Wirkung vielfach zu wenig selektiv; sie richtet sich auch gegen harmlose und nützliche Bodenorganismen und gegen die Kulturpflanzen, die man schützen will.

Die Anreicherung pathogener Bodenpilze ist eine Kulturkrankheit des Bodens, die auf verfehlte Kulturmaßnahmen zurückzuführen ist. Schon die Monokultur an sich kann das natürliche mikrobielle Gleichgewicht im Boden erheblich stören, weil sich in Wurzelnähe eine besondere Mikroflora von einseitiger Zusammensetzung entwickelt. Diese Störung wird um so verhängnisvoller, wenn sie sich Jahr für Jahr wiederholt, d. h. wenn kein Fruchtwechsel möglich ist. Das Überhandnehmen pathogener Bodenpilze ist daher in erster Linie als S y m p t o m einer Störung des biologischen Gleichgewichtes im Boden zu bewerten. Will man hier eingreifen, so kann es sich

nicht darum handeln, das Symptom zu bekämpfen, sondern es müssen durch geeignete Kulturmaßnahmen die Ursachen der Störung im Boden behoben werden. Die äußerst komplizierten Verhältnisse im Boden werden wohl etwas zu stark schematisiert, wenn man glaubt, daß man das natürliche Gleichgewicht wieder herstellen könne, indem man einen Pilz in den Boden bringe, der als Antagonist gegen die pathogenen Bodenpilze wirkt. In der von uns verwendeten Erde war *Trichoderma* sehr häufig. Wir konnten auch feststellen, daß Kulturfiltrate dieses Pilzes in vitro sehr stark auf *Rhizoctonia* und *Moniliopsis* wirken. Trotzdem erhielten wir auch in ungedämpfter Erde bei Blumenkohl bedeutende Keimungsausfälle, wenn diese Erde mit *Rhizoctonia* beimpft wurde (Tabelle 1). Wir glauben deshalb, daß die Aussichten für eine wirksame biologische Bekämpfung pathogener Bodenpilze vorläufig recht gering sind.

Penicillium expansum ist durch sein Stoffwechselprodukt Patulin sicher antagonistisch sehr wirksam. Trotzdem kann dieser Pilz für eine biologische Bekämpfung pathogener Bodenpilze nicht in Betracht kommen. Wir wissen vor allem nicht, ob Patulin in jedem Boden in genügender Menge gebildet wird und ob es dort längere Zeit wirksam bleibt. Zudem ist Patulin ein so starkes Zellgift, daß eine Schädigung der Kulturpflanzen als wahrscheinlich betrachtet werden muß. Allerdings scheint es, daß die von uns verwendeten *Rhizoctonia*-Stämme gegenüber Patulin bedeutend empfindlicher sind als z. B. Blumenkohl und Rettich, wie aus der folgenden Zusammenstellung der ungefähren LD_{50}-Werte hervorgeht:

Blumenkohl, Keimungshemmung	etwa	$1{,}5 \cdot 10^{-3}$	mol.
Hemmung des Wurzelwachstums	etwa	$1{,}25 \cdot 10^{-3}$	mol.
Rettich, Schwarzfuß (deutliches Krankheitsbild)	etwa	$1 \cdot 10^{-3}$	mol.
Alternaria tenuis, Konidienkeimung	etwa	$3{,}5 \cdot 10^{-4}$	mol.
Moniliopsis, Trockengewicht des Mycels	etwa	$4 \cdot 10^{-5}$	mol.

Die Wirkung von Patulin auf die Entwicklung von *Moniliopsis* ist rund 38mal stärker als auf die Samenkeimung und 31mal stärker als auf das Wurzelwachstum von Blumenkohl. Man könnte diesen chemotherapeutischen Index als günstig betrachten und aus diesen Versuchen schließen, daß sich *Penicillium expansum* für die biologische Bekämpfung von *Moniliopsis* gut eignet. Wir dürfen aber nicht vergessen, daß der chemotherapeutische Index in diesem Falle überhaupt nichts bedeutet, weil wir im Gegensatz zur direkten chemischen Bekämpfung keine Möglichkeit haben, die Konzentration der giftigen Stoffwechselprodukte auch nur einigermaßen zu dosieren. Es müßten also unter Umständen bedeutende Auflaufschäden in Kauf genommen werden. Bei der Verwendung von Patulin wäre eine Dosierung zwar möglich, doch kämen wir damit zu einer chemischen Bekämpfungsmethode, die wegen der

starken phytoziden Wirkung des Patulins von recht zweifelhaftem Wert sein müßte.

Zusammenfassung

1. Versuche zu einer biologischen Bekämpfung von *Rhizoctonia* durch *Penicillium expansum* und *Trichoderma viride* schlugen fehl, obschon Anzeichen vorhanden waren, daß in der von uns verwendeten Komposterde antagonistische Beziehungen zwischen diesen Pilzen bestehen.

2. Die Stoffwechselprodukte von *Rhizoctonia* verursachten in vitro keine Herabsetzung der Samenkeimung, dagegen wurde das Wurzelwachstum deutlich reduziert, und zwar auch bei Pflanzen, die gegenüber den verwendeten *Rhizoctonia*-Stämmen widerstandsfähig sind (Tomate).

3. Die Stoffwechselprodukte von *Penicillium expansum* üben eine starke Hemmung auf die Samenkeimung aus.

4. Die hemmende Wirkung der Stoffwechselprodukte von *Penicillium expansum* auf die Samenkeimung, auf das Wachstum von *Rhizoctonia* und auf die Konidienkeimung von *Alternaria tenuis* ist bei 11 bis 13 Tage alten Kulturen am stärksten; in älteren Kulturen geht sie wieder etwas zurück.

5. Patulin wirkt auf die Samenkeimung, auf das Wurzelwachstum, auf das Wachstum von *Rhizoctonia* und auf die Konidienkeimung bei *Alternaria* in gleicher Weise wie Kulturfiltrate von *Penicillium expansum.* Man kann deshalb annehmen, daß die wirksame Substanz in diesen Filtraten aus Patulin besteht.

6. Der Schwarzfuß ist ein unspezifisches Symptom, das nach mechanischer Verletzung des Hypokotyls oder nach Vorbehandlung mit Chloroform oder Aether durch Kulturfiltrate von *Rhizoctonia, Penicillium expansum,* Patulin und durch verschiedene andere Substanzen erzeugt werden kann.

Summary

1. It was not possible to obtain a biologic control of damping-off caused by *Rhizoctonia* by means of *Penicillium expansum* or *Trichoderma viride* in a compost garden soil, although there are indications that antagonistic relations must occur in this soil.

2. Filtrates from *Rhizoctonia* cultures caused no reduction of seed germination; on the other hand these filtrates showed a significant reduction of the growth of the roots. This inhibition occurred likewise in roots of germinating plants beyond the host range of the *Rhizoctonia* strains here used.

3. Filtrates from cultures of *Penicillium expansum* caused a distinct reduction in seed germination.

4. The inhibitory action of staling products from *Penicillium expansum* on seed germination, on the growth of *Rhizoctonia* and on the germination of conidia of *Alternaria tenuis* is most expressed in filtrates of cultures from 11—13 days. Older cultures showed a much weaker inhibition.

5. Patulin acts in the same manner on seed germination, growth of roots, mycelial weigth of *Rhizoctonia* and conidia germination of *Alternaria* as the filtrates of *Penicillium expansum*. Therefore we can assume that the staling products in these filtrates must be Patulin.

6. Blackleg (post-emergence damping-off) is an unspecific symptom which can be produced by the attack of fungi, and likewise by filtrates of *Rhizoctonia*, *Penicillium expansum* or Patulin and different other substances following mechanic injuries or foregoing treatment with alcool or ether.

Literaturverzeichnis

1. Anwar, A. A.: Factors affecting the survival of *Helminthosporium sativum* and *Fusarium lini* in soil. Phytopath. **39**, 1005—1019. 1949.
2. Boosalis, M. G.: Necrosis of Soybean stem and root caused by *Rhizoctonia solani*. Phytopath. **37**, 3. 1947.
3. Bosch, E.: Untersuchungen über die Biologie und Bekämpfung der Vermehrungspilze *Moniliopsis Aderholdi* und *Rhizoctonia solani*. Landwirtsch. Jahrbuch der Schweiz 1948, 791—825.
4. Ettlinger, L.: Antibiose und antibiotische Stoffe der Pflanzen. Schweiz. Zeitschr. für Pathol. und Bakt. **9**, 352—378. 1946.
5. Gäumann, E.: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl. Basel, 1951.
6. — —: Neuere Erfahrungen mit Welketoxinen. Experientia **7**, 441—447. 1951.
7. — — und v. Arx, A.: Antibiotica als pflanzliche Plasmagifte II. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **57**, 174—183. 1947.
8. — —, Jaag, O. und Braun, R.: Antibiotica als pflanzliche Plasmagifte. Experientia **3**. 1947.
9. — —, Naef-Roth, St., Reusser, P. und Ammann, A.: Über den Einfluß einiger Welketoxine und Antibiotica auf die osmotischen Eigenschaften pflanzlicher Zellen. Phytopath. Zeitschr. **19**, 160—220. 1952.
10. Hartley, C.: Stem lesions caused by excessive heat. Jour. Agr. Res. **14**, 595—604. 1918.
11. Jaarsveld, A: De invloed van verschillende bodenschimmels op de virulentie van *Rhizoctonia solani* Kühn. Proefschrift Amsterdam 1940.
12. van Luijk, A.: Untersuchungen über Krankheiten der Gräser. Mededeel. Phytopath. Laborat. „Willie Commelin Scholten", Baarn **13**, 1—20. 1934.
13. — —: Antagonism between various microorganismus and different species of the genus Pythium parasitizing upon grasses and Luzerne. Mededeel. Phytopath. Laborat. „Willie Commelin Scholten", Baarn **14**, 45—82. 1938.
14. Miescher, G.: Über die Wirkungsweise von Patulin auf höhere Pflanzen. Phytopath. Zeitschr. **16**, 369—397. 1950.
15. Richter, H.: Mikrobiologie, in Festschrift zum fünfzigjährigen Bestehen der Biologischen Zentralanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin-Dahlem, 1949.
16. — — und Schneider, R.: Untersuchungen zur morphologischen und biologischen Differenzierung von *Rhizoctonia solani* K. Phytopath. Zeitschr. **20**, 167—226. 1953.

17. Smith, G.: Antifungal substances from moulds. II. The effect of patulin on the growth of various plant parasites. Trans. Brit. Myc. Soc. **31**, 136—139. 1947.

18. Thomas, K. S.: Onderzoekingen over *Rhizoctonia*. Diss. Phytopath. Labor. „Willie Commelin Scholten", Baarn, 1925.

19. Wallenfels, K.: Symbiose und Antibiose. Die Chemie (n. F.) **58**. 1945.

20. Waksman, S. A.: Microbial antagonisms and antibiotic substances. New York, 1945.

21. Weindling, R.: Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. Phytopath. **24**, 1153—1179. 1934.

22. — —, Katznelson, H. and Helen Purdy Beale: Antibiosis in relation to plant diseases. Annual. Rev. of Microbiology 1950, p. 247—260.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für forstliche Mykologie und Holzschutz, Hann. Münden

Zur Kenntnis der Biologie und der Pathogenität von *Dothichiza populea* Sacc. et Briard, dem Erreger eines Rindenbrandes der Pappel[1])

Von

A. Schmidle

Mit 11 Abbildungen

Die ernsthafteste Gefahr für den deutschen Pappelanbau stellt zur Zeit ein Rindenbrand dar, der durch den Pilz *Dothichiza populea* Sacc. et Briard hervorgerufen wird. Nachdem vor kurzem über einen der verbreitetsten, vom pathologischen Standpunkt aus aber harmlosen Pilz in Pappelanlagen — *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fries — berichtet wurde (Schmidle 1953), sollen Beobachtungen und Untersuchungen, die parallel dazu mit *Dothichiza populea* durchgeführt worden sind, hier mitgeteilt werden.

Die ersten Beschreibungen des Pilzes stammen aus Frankreich von Saccardo und Briard (1884), aus Holland von Oudemans (1889) und aus Deutschland von Krieger (1895). Über parasitisches Auftreten von *Dothichiza populea* berichtet erstmalig Delacroix (1903); in einer späteren Arbeit (1906) macht er Mitteilungen über Infektionsversuche und Bekämpfungsmaßnahmen. Im folgenden Jahr meldet Voglino (1907) den Pilz aus Italien und glaubt, daß *Dothichiza populea* die Nebenfruchtform des Ascomyceten *Cenangium populneum* (Pers.) Rehm. (1910, 1911) ist; diese Ansicht konnte jedoch bisher nicht bestätigt werden. In Amerika wurde der Pilz von Hedgcock und Hunt (1916) beschrieben; in ihrer Arbeit diskutieren sie die Möglichkeit einer Einschleppung aus Europa. Es folgen nun zahlreiche Untersuchungen und Berichte aus dem Ausland, so von Moss (1922), Detmers (1923), Foëx (1923), Hiley (1923), Hedgcock (1927), Dufrénoy (1930), Anonym (1932), Lanzoni (1932), Day und Peace (1934), Petri (1937, 1939), Van Vloten

1) Teilergebnis eines ERP-Forschungsauftrags, der mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft beendet wurde. Die Anregung zu dieser Arbeit gab Herr Prof. Dr. Zycha, dem ich auch für die Hinweise bei der Durchführung der Untersuchungen herzlich danke.

(1938, 1938 a), LANZONI (1939), GOIDANICH (1940), TER PELKWIJK und BRINK (1946), BRENY (1946), DAVIS (1948), KIŠPATIĆ (1950), HERBIGNAT (1950), VANDERWALLE (1950), CIFERRI (1951) und HOUTZAGERS (1951).

Aus Deutschland stammen die ersten Berichte über das pathogene Auftreten des Pilzes, die sich jedoch fast alle auf eine Beschreibung des Krankheitsbildes beschränken, von KOTTHOFF (1931), LIESE (1931), BABEL (1931), HAMPFER (1931), Anonym (1931, 1932), RICHTER (1933), VILL (1935) und BAVENDAMM (1936). 1933 untersuchte KLEBAHN den Pilz taxonomisch und hält die Bezeichnung *Chondroplea populea* (Sacc. et Briard) Kleb. für richtiger. In einer späteren Arbeit (1937) berichtet er auch über Infektionsversuche. Neuere Berichte oder Untersuchungen stammen von SCHWERDTFEGER (1949, 1950), REGLER (1952) und SCHÖNHAR (1952).

Obwohl KLEBAHN (1933) und GOIDANICH (1940) den Pilz als *Chondroplea populea* bezeichnen, hat sich dieser Name bisher nicht durchgesetzt, so daß in der vorliegenden Arbeit der bisherige Name *Dothichiza populea* beibehalten wird.

Von SCHWERDTFEGER (1950) wurde dem Pilz der deutsche Name „Rindentod" gegeben, der seither oft in Publikationen gebraucht wird.

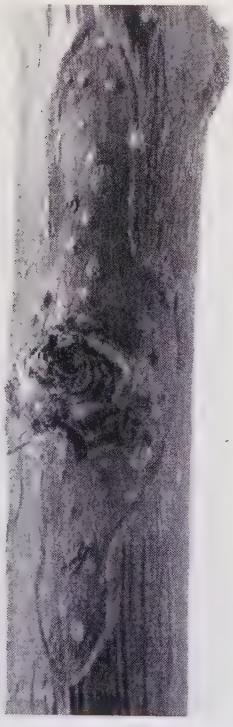


Abb. 1. Durch *Dothichiza populea* hervorgerufenes „Rindenschild" mit Anfangsstadien von Pykniden (Bild BBA-MH 6824)

Trotz der Fülle der Literatur sind die Infektionszeit, die zeitliche Ausbreitung des Pilzes in der Pflanze, die Bedingungen, die ein kalamitätsartiges Auftreten des Pilzes ermöglichen sowie die Fragen der Sorten und Klonresistenz der Pappeln gegenüber dem Pilz nur teilweise geklärt. Es erschien daher angebracht, der Bedeutung des heutigen Pappelanbaues und der Schäden, die dieser Pilz verursacht, entsprechend, neue Beobachtungen und Infektionsversuche anzustellen, um den angeschnittenen Fragen näherzukommen. Vor allem deshalb, weil, wie bereits erwähnt, die meisten deutschen Arbeiten sich nur auf die Beschreibung der Krankheitsbilder beschränken und die vorhandenen ausländischen Erfahrungen nicht ohne weiteres übertragen werden können.

1. Krankheitsbild

Das Anfangsstadium des Befalls durch *Dothichiza populea* macht sich durch braune bis schwarze Flecken auf der Rinde bemerkbar, die sowohl auf den Seitenzweigen als auch auf dem Stamm der Pappelpflanzen zu finden sind. Sie ähneln sehr den durch *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fries hervorgerufenen. Meist sind sie an den Narben von Blättern und Knospenschuppen und damit an der Basis von Seitenzweigen und an der Grenze der Jahres-

triebe zu finden (Zycha und Schmidle 1953). Beginnt das Wachstum des Baumes, so erscheinen diese Flecken, als ob die Rinde eingefallen wäre. Mit der Zeit zeichnet sich ein „Rindenschild" (Abb. 1) um die primäre Befallsstelle ab. Im weiteren Stadium bilden sich in oder unter der Rinde die schwärzlichen Pykniden des Pilzes von 0,5 bis 1,5 mm Durchmesser. Sie heben den äußeren Teil der Rinde hoch, so daß runde bis längliche Pusteln, oft in konzentrischen Ringen oder in Streifen angeordnet, zu finden sind (Abb. 2). Wird die Rinde an solchen Stellen abgenommen, so bemerkt man auf dem Holz dunkelbraune bis schwarze Verfärbungen, ebenfalls in konzentrischer Anordnung (Abb. 3). Die Rinde wird im weiteren Verlauf der Krankheit durchbrochen, und es treten bei feuchtem Wetter cremefarbene bis grauschwarze Sporenranken heraus, die meist kurz und gedrungen sind (Abb. 4). Sie bestehen aus unzähligen, hyalinen, meist einzelligen, ovalen bis birnförmigen Sporen von 10 bis 17 × 7 bis 10 μ. Sind die Sporen aus den Pykniden entleert, so findet man auf der Rinde kleine Gruben, in denen die Sporen gesessen haben.

Abb. 2. Pykniden von *Dothichiza populea*, die Rinde durchbrechend (Bild BBA-MH 6834)

Die gesunde Rinde, die sich um die von dem Pilz befallene Stelle befindet, wächst weiter und versucht den Schaden abzugrenzen und zu überwallen. Dabei treten in der Rinde Spannungen auf, die kranke Rinde zerreißt und zerfasert sich, und das darunter befindliche Holz wird freigelegt. In diesem Stadium der Krankheit ist ihre Ursache nicht mehr ohne weiteres festzustellen, da solche Stellen oft denjenigen gleichen, die durch mechanische Verletzungen verursacht worden sind.

Durch den Pilz sind besonders ein- bis zweijährige frisch versetzte Pappeln gefährdet. Doch tritt er auch an mehrjährigen Pflanzen auf und kann hier noch beträchtliche Schäden hervorrufen. An Zweigen, Ästen oder dünnen Stämmchen erfolgt oft ein umfassendes Wachstum durch den Pilz, das dann zur Abtötung des betreffenden Pflanzenteiles bzw. des Gipfels führt. Auf älteren Bäumen führt der Befall meist zu Schadstellen kleineren Ausmaßes, die im Laufe der Vegetationsperiode überwallen; oft sind die

Abb. 3 links. Durch den Pilz auf dem Holz hervorgerufene, konzentrisch um seine vermutliche Eintrittsstelle angeordnete, schwarze Verfärbungen (Bild BBA-MH 9027)

Abb. 4 rechts. Aus den Pykniden von *Dothichiza populea* herausgetretene Sporenranken (Bild BBA-MH 8735)

Fruchtkörper des Pilzes an absterbenden Zweigen zu finden, wo er saprophytisch lebt.

Die bisher beschriebenen Schäden entsprechen den bekannten Merkmalen eines „Rindenbrandes", wie sie von APPEL und WESTERDIJK (1919) beschrieben wurden.

Um die näheren Umstände, unter denen es zur Infektion und Ausbreitung des Pilzes in der Pflanze kommt, festzustellen, und um sich ein Bild über den Krankheitsverlauf machen zu können, war es notwendig, in ausreichendem Maße künstliche Impfversuche durchzuführen.

2. Infektionsversuche

Durch die vorliegenden Impfversuche sollte einmal geklärt werden, in welcher Jahreszeit die Infektionen durch den Pilz vor sich gehen und zum anderen, ob und wann (zeitlich) die eingetretenen Infektionen zu einem wirklichen Befall durch den Pilz führen; weiterhin wie die Krankheit verläuft und ob und unter welchen Bedingungen es zum Absterben der betroffenen Pflanzen kommt. Unter diesen Gesichtspunkten wurden Infektionen an gut wachsenden, an frisch verpflanzten, an geköpften und an künstlich geschwächten Pappeln durchgeführt.

a) Infektionsmethoden und Infektionsmaterial

Für die künstlichen Infektionen fanden im Prinzip dieselben Methoden Verwendung, wie sie bei *Cytospora chrysosperma* (SCHMIDLE 1953) benutzt wurden.

Das verwendete Sporenmaterial wurde teils von natürlich befallenen Pflanzen gewonnen, teils aus zehn Reinkulturstämmen verschiedener Herkunft. Die Reinkulturen wurden teils auf Malzextraktagar, teils in Erlenmeyerkolben auf Weizen und Pappelzweigstückchen herangezogen (5 g Weizen in 8 ccm Wasser einen halben bis einen Tag vorgequollen; auf den Weizen wurden kurze Pappelzweigstückchen gelegt oder gestellt und anschließend die Kolben dreimal im strömenden Dampf 40 Minuten sterilisiert). Nach dem Beimpfen wurden die Kolben im Brutschrank bei 23° C gehalten. Ungefähr sechs bis acht Wochen später hatten sich auf den Pappelstückchen zahlreiche Fruchtkörper von *Dothichiza populea* gebildet. Die heraustretenden Sporenranken wurden entnommen oder die Pykniden zerquetscht und mit den Sporen in Wasser gegeben, so daß eine Sporensuspension

vorlag. Das so gewonnene Sporenmaterial vermischten wir immer mit solchem von natürlich befallenem Pflanzenmaterial. Dadurch wurde ermöglicht, daß die Impfungen den natürlich vorkommenden Infektionen weitgehend entsprechen und einseitige Verwendung von virulenten oder avirulenten Stämmen ausgeschlossen wurde. Bei den Myzelinfektionen fanden kleine, von Myzel überzogene Agarstückchen Verwendung.

In kleine Risse oder Schnitte von 0,5 bis 1 cm Länge in der Rinde von Zweigen, Ästen oder in die Stämmchen der Pappeln, die bis auf den Holzkörper reichten, wurden unmittelbar darauf mit einer Rekordspritze einige Tropfen der hergestellten Sporensuspension gegeben. Im Falle der Verwendung von Myzel bei der Impfung wurden kleine, vom Myzel überzogene Agarstückchen in die Wunden eingelegt. Bei einem Teil der Pflanzen erfolgte nach dem Beimpfen die Anlegung eines feuchten Verbandes von wassergetränkter Watte mit Ölpapier um die Wunden. Nach acht bis vierzehn Tagen wurde dieser Verband wieder entfernt. Der andere Teil der Impfstellen blieb unverbunden. Die Kontrollen blieben unbeimpft, erhielten aber sonst die gleiche Behandlung.

Als Kriterium einer gelungenen *Dothichiza*-Infektion diente die Anwesenheit von *Dothichiza*-Pykniden oder eine über die Schnittstelle hinausgehende Verfärbung der Rinde, so sich aus dieser *Dothichiza*-Myzel reisolieren ließ. Hierfür wird die Bezeichnung „positive" Infektion benutzt.

b) Infektionen im Freiland an gut wachsenden Pflanzen

Die Versuche, welche, wie bereits erwähnt, parallel zu den *Cytospora*-Infektionsversuchen durchgeführt wurden, erfolgten in der Zeit vom April 1952 bis März 1953. Die niedersächsischen Forstämter Escherode und Herberhausen sowie das Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung in

Tabelle 1

Gesamtübersicht der vom April 1952 bis einschließlich April 1953 vorgenommenen Infektionen mit *Dothichiza populea*

Datum	Ort	*Dothichiza*-Infektionen mit					Kontrollen	von *Dothichiza* befallene Kontrollen
		Sporen		Myzel		Befall durch *Cytospora*		
			davon „positiv"		davon „positiv"			
29. 4.52	Schmalenbeck	71	5	6	1	0	35	0
20. 5.52	Escherode	29	0	—	—	0	9	0
13. 6.52	Herberhausen	40	4	—	—	3	9	0
4. 7.52	Escherode	86	6	—	—	0	6	0
11. 9.52	Escherode	107	36	—	—	0	27	0
16. 9.52	Herberhausen	55	24	—	—	0	15	1
30. 9.52	Escherode	—	—	84	46	0	15	1
20.10.52	Herberhausen	36	15	—	—	0	8	0
23. — 24. 10.52	Schmalenbeck	353	68	—	—	1	87	0
		—	—	92	30	1		
29.10.52	Escherode	88	24	17	8	0	16	1
24. 2.53	Herberhausen	45	12	—	—	0	9	0
26. 2.53	Escherode	—	—	39	18	0	6	0
25. 3.53	Escherode	50	10	25	10	0	8	0
27. 4.53	Bovenden*) (Harster Unterholz)	152	2	51	41	0	28	0
	insgesamt	1 112	206	314	154	5	278	3

*) Diese Pappeln wurden im Laufe des Monats April 1953 verpflanzt.

Schmalenbeck bei Hamburg stellten hierfür die erforderlichen Pflanzen im Alter von ein bis fünf Jahren zur Verfügung[2]). Das zu den Versuchen verwendete Pflanzenmaterial bestand aus über 50 Pappelklonen und Sorten. Die beimpften Pflanzen wurden, soweit es sich ermöglichen ließ, in etwa vierwöchentlichen Abständen beobachtet.

Einzelheiten über die fast 1400 vorgenommenen künstlichen Infektionen und Kontrollen sind der Tabelle 1 zu entnehmen; aus der Abb. 5 ist der monatliche Anteil der als „positiv" bezeichneten Infektionen prozentual der vorgenommenen Impfungen während der Monate April, Mai, Juni, Juli, September und Oktober 1952 und der Monate Februar und März 1953 zu ersehen. Es geht daraus hervor, daß die während der Vegetationsperiode, also in der Zeit von April bis Juli 1952, durchgeführten künstlichen Sporeninfektionen relativ wenig „positive" Ergebnisse zeitigten; sie liegen nicht über 10 % der vorgenommenen Impfungen. Im September 1952 jedoch, also gegen Ende der Vegetatonszeit, erfolgt ein sprunghaftes Ansteigen der Zahl der durch den Pilz befallenen Pflanzen bis zu 37 %, und sie steigt im Oktober 1952 noch auf 38,5 % an. Im Februar und März 1953 sinken diese Zahlen wieder auf 27 bzw. 20 % ab.

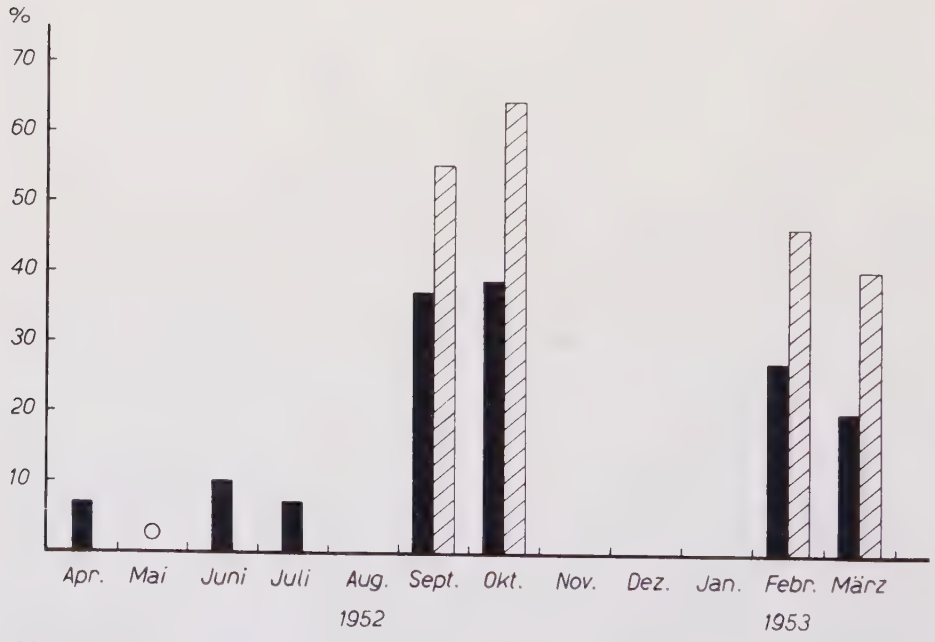


Abb. 5. Darstellung über die Sporen- und Myzelinfektionen vom April 1952 bis März 1953. Ordinate gibt die Anzahl der als „positiv" bezeichneten Infektionen prozentual der vorgenommenen Impfungen. Abszisse zeigt, in welchen Monaten die Versuche durchgeführt wurden.
■ Sporeninfektionen ▨ Myzelinfektionen
○ durchgeführte Impfungen ohne „positive" Infektionen

[2]) Den genannten Stellen sei für ihr Entgegenkommen hiermit besonders gedankt.

Vergleichen wir damit die Ergebnisse der Myzelimpfungen während der Monate September und Oktober 1952 und Februar und März 1953, so zeigen diese einen ähnlichen Verlauf wie diejenigen der Sporenimpfungen; jedoch ist die Zahl der hiermit erzielten „positiven" Infektionen wesentlich größer. Im September 1952 sind es 55 %, im Oktober erfolgt sogar ein Anstieg auf 64 %; im Februar und März 1953 ist ein Abfallen auf 46 bzw. 40 % vorhanden; sie betragen aber im März noch das Doppelte der Sporeninfektionen.

Aus der Abb. 5 kann also entnommen werden, daß die künstlichen Infektionsversuche mit *Dothichiza populea* gegen das Ende der Vegetationszeit und während der Vegetationsruhe wesentlich besser gelingen als während der Vegetationszeit, d. h. also, daß die Ausbreitung des Pilzes in der Pflanze von September bis Ende März erfolgen kann.

Durch die fortlaufenden Beobachtungen vom Beginn der Versuche im April 1952 bis zum August 1953 wurde festgestellt, daß die in den Monaten April, Mai, Juni und Juli 1952 vorgenommenen Infektionen, die als „positiv" bezeichnet wurden, im Herbst 1952 Pykniden bildeten; bei den Impfungen vom September und Oktober 1952, Februar und März 1953 trat die Pyknidenbildung jedoch erst im April, teilweise erst im Mai 1953 auf. Dünnere Zweige bis zu ungefähr 0,6 cm wurden von dem Pilz meist durch umfassendes Wachstum getötet. Bei dickeren Ästen oder an den Stämmen bildeten sich „Rindenschilder" von 2 bis 6 cm Länge (Abb. 6), im Extremfall auch bis zu 8 cm Länge. Mit Beginn des Dickenwachstums der Pflanzen riß die Rinde auf, und das Holz wurde freigelegt. Bis zum Abschluß der vorliegenden Arbeit im August 1953 starb aber keine der so befallenen Pflanzen ab, überall bildeten sich kräftige Überwallungswülste (Abb. 7), und es ist zu erwarten, daß diese Schadstellen, mit Ausnahme der größeren, bis zum Ende der Vegetationsperiode geschlossen werden.

Abb. 6 links. Durch künstliche Infektionen mit *Dothichiza* hervorgerufene Befallsstelle. Impfung am 30. 9. 1952. Aufnahme am 6. 5. 1953 (Bild BBA-MH 8620 Dr. Schulz)

Abb. 7 rechts. Die gleiche Befallsstelle wie Abb. 6 am 18. 7. 1953 aufgenommen. Die Überwallung hat kräftig eingesetzt (Bild BBA-MH 9404 Dr. Schulz)

c) Infektionen an im April 1953 frisch verpflanzten Pappeln

Für diesen Versuch wurden im Laufe des April 1953 einjährige Pflanzen, die aus Stecklingen gezogen waren, sowie zweijährige Sämlinge (im ersten Jahr verschult) verschiedener Kreuzungen[3]) in ein Bombentrichtergelände im Harster Unterholz des Forstamtes Bovenden bei Göttingen[2]) gepflanzt und am 27. April 1953 teils mit Sporen, teils mit Myzel in der oben erwähnten Art und Weise beimpft. Am 8. Juni 1953 wurden die Impfungen ausgewertet; in Tabelle 2 sind die Ergebnisse zusammengestellt. Von den 116 vorgenommenen Sporeninfektionen an den Sämlingen ist nur eine einzige „positiv" ausgefallen. Hinsichtlich der Anfälligkeit zeigten sich praktisch keine Unterschiede, ob feuchte Verbände angelegt wurden oder nicht. Bei *Populus regenerata, P. rema, P. serotina* und der „Löns-Pappel" waren keine, bei *P. robusta* I und *P. robusta* II zwei bzw. vier „positive" Infektionen vorhanden.

Tabelle 2

Impfergebnisse mit *Dothichiza populea* an im April 1953 verpflanzten Pappeln

Pappelsorten und Kreuzungen	Infektionen mit					Kontrollen
	Sporen			Myzel		
	ohne Verband	mit feuchtem Verband	davon „positiv"	mit feuchtem Verband	davon „positiv"	
dreijährige Sämlinge von *Canescens* (Dill) × *Tremuloides* (Canada) 17/51	14	16	0	14	9	6
dreijährige Sämlinge von *Tremula* (Brauna) × *Tremuloides* (USA—Turr) 19/51	14	16	0	14	14	5
dreijährige Sämlinge von *Canescens* (Dill) × *Tremula* (Tannenhöft) 81/51	14	14	0 1	14	12	4
dreijährige Sämlinge von *Alba* (Westerstede) × *Tremula* (Syke) 61/51	14	14	0	9	6	6
Regenerata einjährig	8	—	0	—	—	2
Rema „	8	—	0	—	—	2
Serotina „	8	—	0	—	—	2
„Löns-Pappel" „	8	—	0	—	—	2
Robusta I „	8	—	2	—	—	2
Robusta II „	8	—	4	—	—	2

Demgegenüber ergaben die Myzelinfektionen deutliche, von den Sporeninfektionen abweichende Ergebnisse. Hier sind von den an den Sämlingen

[3]) Herr Dr. GREHN, Schmalenbeck, und die Baumschule Rüskamp stellten in dankenswerter Weise für diesen Versuch Pflanzen zur Verfügung.

vorgenommenen 51 Impfungen, die zur selben Zeit wie die Sporeninfektionen erfolgten, 80 % „positiv" ausgefallen (Tabelle 2). Es bildeten sich „Rindenschilder" von 2 bis 6,5 cm Länge, doch war bis Ende Juli 1953 nur ein Seitenzweig durch den Pilz getötet. Alle anderen zeigten noch grüne Blätter, wenn auch die Schadstellen zum Teil beinahe die Zweige umfaßten. An den Schadstellen der Stämme hat inzwischen ein kräftiges Überwallungswachstum begonnen. Es ist wahrscheinlich, daß die Pflanzen diese Schäden überstehen, wenn dies auch zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht mit Sicherheit behauptet werden kann. Die durchgeführten Kontrollen blieben alle unbefallen.

Weitere Impfversuche mit Sporen und mit Myzel am 26. Juni 1953 an Pappeln, die am 25. Juni 1953 verpflanzt wurden, konnten nicht mehr ausgewertet werden. Durch das Versetzen verloren sie die vorhandenen Blätter, der obere Teil der Pflanzen verdorrte, während sie unten wieder neu austrieben. Durch das schnelle Vertrocknen der Pflanzen war es dem Pilz nicht mehr möglich, sich in der Pflanze auszubreiten.

Aus dem zuerst genannten Versuch ist ersichtlich, daß es trotz Versetzen der Pflanzen im April, trotz der in dieser Zeit herrschenden trockenen Witterung und dem teils ungünstigen Standort (stauende Nässe, verdichteter Boden usw.), nicht gelungen ist, durch Sporenimpfungen „positive" Infektionen und damit Ausfälle unter den Pflanzen zu erreichen. Anders liegen die Verhältnisse bei den Myzelinfektionen. Es ist dem Pilz um diese Jahreszeit möglich, in der Rinde weiter vorzudringen, bis die Gegenreaktion der Pflanze — das Überwallungswachstum — beginnt. Durch Sporenimpfungen wird wohl deshalb keine Erkrankung mehr erzielt, weil die Sporen zuerst keimen müssen, so daß die Gegenreaktion der Pflanze dem Eindringen des Myzels in die Rinde zuvorkommt. Dieser Versuch macht deutlich, daß um diese Jahreszeit für die Pflanzen eine verminderte Gefahr besteht, da in der Natur hierfür nur Sporen-, aber keine Myzelinfektionen in Frage kommen. Von den an *Populus robusta* gelungenen Infektionen wird dabei abgesehen.

d) Impfungen an geköpften Pappeln

58 einjährige Pflanzen von *Populus deltoides,* Harsefeld, Nr. 4, wurden auf Versuchsgelände im Botanischen Garten in Hann. Münden in einen Kamp des Forstamtes Kattenbühl, Hann. Münden[2]), und zu je vier Stück in Mitscherlich-Gefäße im Frühjahr 1952 gepflanzt und vor dem Austrieb oben abgeschnitten, so daß nur ein Stumpf von 30 cm stehen blieb. An drei Stellen des Stumpfes, oben, in der Mitte und unten, erfolgten Impfungen mit Sporen von *Dothichiza* kurz vor oder während des Austriebs. Verbände wurden um die Impfstellen nicht angelegt.

Von den 174 vorgenommenen Impfungen zeigten nur elf ein „positives" Ergebnis. In allen Fällen waren sie an dem Teil des Stumpfes vorhanden, der sich über dem obersten Austrieb der Pflanze befand. Nur über eine kleine Zone von höchstens 1 cm Länge konnten Pykniden des Pilzes gefunden werden, und zwar acht bis zehn Wochen nach den vorgenommenen Impfungen. Fast alle Pflanzen waren aber in derselben Zeit von *Cytospora*-Pykniden übersät. Dieser Befall reichte immer bis zum ersten Austrieb der Pflanze (s. Schmidle 1953, 2 b). Überraschend war, daß bei einem Teil der Pappeln

im Kamp des Forstamtes Kattenbühl, deren Impfwunden sich im Herbst, rein äußerlich betrachtet, als geschlossen erwiesen, die Rinde im Frühjahr in der Umgebung der alten Impfstellen einsank und aufriß. Es ist zu vermuten, daß der Pilz in der Rinde während der Vegetationsruhe weitergewachsen ist. Da es sich hier um eine grundsätzliche Frage handelt, müssen noch weitere Untersuchungen darüber angestellt werden. Bei den Infektionsversuchen mit *Cytospora chrysosperma*, die mit denselben Pflanzen am gleichen Standort und zur selben Zeit durchgeführt wurden, trat diese Erscheinung nicht auf.

e) Infektionen an künstlich geschwächten Pflanzenteilen

Durch Einschnitte in die Zweige und in dünnere Äste oder durch Abbinden der Zweige mit Draht im April, Juni und Juli 1952 wurde versucht, den Saftstrom der Pflanzenteile einzuschränken. Daraufhin wurde sofort in der bereits beschriebenen Art und Weise der künstlich geschwächte Teil mit Sporen beimpft. Ein feuchter Verband wurde nicht angelegt.

Von den beimpften 42 geschwächten Zweigabschnitten ergaben sich nur sechs „positive" Infektionen von *Dothichiza*. Ebenso wie bei den geköpften Pflanzen gingen die Infektionen wenig über die Impfstellen hinaus. Durchweg waren diese sechs Äste auch von *Cytospora* befallen, außerdem weitere 25 Äste, die zwar mit *Dothichiza* beimpft wurden, bei denen aber kein Nachweis von *Dothichiza*-Befall gelang. Von den acht Kontrollen waren keine von *Dothichiza*, jedoch vier von *Cytospora* befallen; sechs Äste waren dürr, ohne daß daran ein Pilzbefall festzustellen war. Die *Cytospora*-Pykniden zeigten sich nach etwa acht bis zehn Wochen. Dieser Befall muß durch natürliche Infektion zustande gekommen sein. Insgesamt bot sich hier dasselbe Bild wie bei den Versuchen, die mit *Cytospora chrysosperma* durchgeführt wurden (SCHMIDLE 1953, 2 c).

Dem Pilz *Dothichiza populea* war es also, trotz der künstlichen Schwächung der Zweige, nicht möglich, schnell um sich zu greifen. Ob für den Befall durch *Cytospora* deren schnelleres Wachstum gegenüber *Dothichiza* verantwortlich zu machen ist oder ob andere Faktoren eine Rolle spielen, auf die später kurz eingegangen wird, muß noch dahingestellt bleiben.

3. Besprechung der Infektionsergebnisse

Aus Tabelle 1 und Abb. 5 kann entnommen werden, daß bei eingetretener Infektion durch *Dothichiza populea* der Pilz sich bei im Freiland gut wachsenden Pflanzen nur am Ende der Vegetationsperiode und während der Vegetationsruhe (bei den vorliegenden Versuchen vom September 1952 bis zum März 1953) in der Rinde der Pappelpflanzen ausbreiten kann. In keinem der Fälle kam es zu einem Absterben der Pflanzen bis zum August 1953. Lediglich dünnere Seitenzweige wurden von dem Pilz umfaßt und abgetötet. Die Gefahren durch die während der Vegetationszeit erfolgten Impfungen sind also für die Pflanzen relativ gering.

Hinsichtlich der Sporen- und Myzelinfektionen bestehen wesentliche Unterschiede insofern, als die „positiven" Ergebnisse der Myzelinfektionen

wesentlich günstiger liegen und im März 1953 sogar das Doppelte der Sporeninfektionen betrugen (s. Abb. 5 und Tabelle 1). Noch deutlicher wird diese Tatsache an den im April 1953 unter extremen Bedingungen verpflanzten und Ende April 1953 beimpften Pflanzen sichtbar. War es doch durch die vorgenommenen Sporeninfektionen nicht mehr möglich, von den Fällen bei *P. robusta* abgesehen (s. Tabelle 2), „positive" Infektionen zu erzielen.

Diese unterschiedlichen Ergebnisse mit den Sporen- und Myzelinfektionen verdeutlichen, daß bei solchen Versuchen die Myzelinfektionen nicht überschätzt werden dürfen, da die natürlichen Infektionen hier wohl kaum durch Myzel vonstatten gehen, sondern durch Sporen. Auch die Verwendung von Myzelinfektionen bei Resistenzprüfungen führen meines Erachtens zu einseitigen Ergebnissen, da hierbei viel mehr Pflanzen als „anfällig" bezeichnet werden, als dies unter natürlichen Bedingungen (Sporeninfektion) der Fall wäre.

In diesem Zusammenhang ist es noch notwendig, einen Blick auf die vorhandene Literatur zu werfen. Die ersten künstlichen Impfversuche mit *Dothichiza populea* an gesunden Pflanzen und Stecklingen hat Delacroix (1906) durchgeführt. Während nur ein Drittel der jungen gesunden Pflanzen, die mit Sporen von *Dothichiza populea* beimpft wurden, erkrankten, zeigten vier Fünftel der nichtbewurzelten und die Hälfte der bewurzelten Stecklinge *Dothichiza*-Infektionen.

Tabelle 3

Vergleich der „positiven" Infektionen von Van Vloten (1938 a) mit den eigenen Impfungen in Prozenten

„positive" Infektionen		Ende April	Mai	Juni	Juli	Sept.	Okt.	Febr.	Ende März*) bzw. Anfang April
Van Vloten, Impfung mit Myzel an Setzstangen		—	37	—	—	54	97	—	55
eigene Versuche, Impfung mit	Myzel	—	—	—	—	55	64	46	40
	Sporen	7	0	10	7	37	39	27	20

*) Da die Versuche von Van Vloten in der ersten Hälfte des April und die eigenen Ende März durchgeführt wurden, war es notwendig, um einen richtigen Vergleich zu erhalten, die Ergebnisse dieser beiden Monate gegenüberzustellen.

Über ausgedehnte Impfversuche berichtet Van Vloten (1938, 1938 a). In Tabelle 3 sind die entsprechenden Versuche von Van Vloten (1938 a S. 74), die er mit Myzel an Setzstangen im Laufe des Jahres 1937 durchführte[4]), meinen eigenen gegenübergestellt. Im großen und ganzen entsprechen sie sich während der Monate September, Oktober und März/April. Lediglich

[4]) Laut brieflicher Mitteilung von Herrn Direktor Dr. Van Vloten, Wageningen.

die Infektionen im Mai weichen stark voneinander ab, wobei VAN VLOTEN 37 % angibt, während die unsrigen negativ ausfielen. Die Gründe können verschiedener Art sein; eventuell liegen sie in unterschiedlichen Klimabedingungen oder in dem für die Versuche verwendeten verschiedenen Pflanzenmaterial (Setzstangen bzw. ganze Pflanzen) und lassen sich jetzt natürlich nicht mehr rekonstruieren. Aus der von VAN VLOTEN angeführten Tabelle (S. 74) ist aber zu ersehen, daß die Ausbreitung der Infektionen in diesem Monat nur 10 mm in vertikaler Richtung betrug.

Die Ergebnisse in der vorläufigen Mitteilung von SCHÖNHAR (1952), wobei die Sporenimpfungen im April und deren Auswertung im Oktober 1952 erfolgte, entsprechen durchaus unseren während der Sommermonate 1952 gewonnenen Erkenntnissen. Praktisch waren seine Versuche an den durchgeprüften Sorten bis auf *Populus trichocarpa* negativ, trotzdem seine angewandten Infektionsmethoden (dreimaliges Impfen im Verlauf der Vegetationsperiode und bis zu dreimaliges Anfeuchten des Verbandes am Tage) dem Pilz besonders günstige Bedingungen hätten geben müssen.

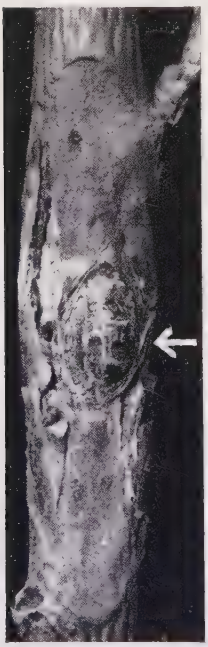


Abb. 8. Am 29. 4. 1952 mit *Dothichiza*-Sporen beimpfter Zweig von *Populus canescens*. Wunde im Herbst 1952 geschlossen. Im Juli 1953 festgestelltes „Rindenschild". (← Impfstelle) (Bild BBA-MH 9421)

Etwas abweichend von unseren Ergebnissen sind die Versuche von HEDGCOCK (1927) und KLEBAHN (1933). Die von HEDGCOCK am 12. Mai 1922 an fünf Pappelsorten und Varietäten vorgenommenen Impfungen brachten im September desselben Jahres leichte „cankers", und im April 1923 erschienen Pykniden auf den Wunden. Die an Blättern vorgenommenen Impfungen, bei denen der Pilz bis in die Rinde der Zweige eindringen soll (siehe auch S. 203), zeigten ebenfalls im Frühjahr 1923 an der Basis der Zweige Pykniden von *Dothichiza populea*. Daß Frühjahrsinfektionen im nächsten Frühjahr unter Umständen „Rindenschilder" bilden können, kann nicht bestritten werden. Auch wir konnten feststellen, daß, wie bereits erwähnt (s. 2 d), scheinbar überwallte Impfstellen im kommenden Frühjahr neue „Rindenbrand"-Stellen zeigen. Es ist deshalb anzunehmen, daß der Pilz während der Ruheperiode der Pflanzen in der Rinde weitergewachsen ist und dieselbe abtötete. Auch bei den im Frühjahr 1952 an *Populus canescens* durchgeführten Impfungen konnten diese Erscheinungen im Juli 1953 beobachtet werden (8 von 40 Impfungen) (Abb. 8). KLEBAHNS Impfversuche mit Sporen im Juni 1933 brachten bis Mitte November desselben Jahres bei einem Teil der Pflanzen Pykniden. Wiederholungen im Juni und August, sowie im Oktober 1934 mit Myzel, blieben erfolglos. Da die Infektionsergebnisse des Jahres 1933 nicht reproduzierbar waren und außerdem zahlenmäßig nur wenige künstliche Impfungen durchgeführt wurden, kann ihnen keine zu

große Bedeutung beigemessen werden. Im übrigen sind auch uns, wie aus Abb. 5 zu ersehen ist, einige Infektionen während der Sommermonate gelungen.

Weiterhin berichtet Van Vloten (1938) über am 5. und 6. April 1937 vorgenommene Impfungen an Pflanzen, die 1936 bzw. 1937 verpflanzt wurden. Während bei den 1936 verpflanzten Pappeln nur 26 % „positive" Infektionsergebnisse vorhanden waren, zeigten die 1937 verpflanzten Pappeln 47,5 %; d. h. aber, daß durch das frische Verpflanzen die Anfälligkeit gegenüber dem Pilz erhöht wird. Unsere im April 1953 verpflanzten und geimpften Pappeln (siehe 2 c) bestätigen diese Ergebnisse. Allerdings erhielten wir bei unseren Versuchen sogar 80 % „positive" Infektionen, also fast das Doppelte der von Van Vloten erreichten Zahl. Dieser Unterschied unserer Versuche gegenüber denjenigen von Van Vloten mag ebenfalls durch die verschiedenen Umgebungs- und Klimaeinwirkungen bedingt sein, zumal der Standort unserer Pappeln, wie bereits erwähnt, sehr schlecht war. Bei diesen Versuchen ist jedoch zu beachten, daß es sich sowohl bei Van Vloten wie bei unseren Versuchen um Myzelimpfungen handelte, und daß unsere Sporenimpfungen, ob mit oder ohne feuchten Verband, praktisch negativ ausgefallen sind, also um diese Zeit (Ende April) die Gefahr einer Sporeninfektion nicht mehr groß ist.

Unsere im allgemeinen negativ ausgefallenen Impfversuche an geköpften und künstlich geschwächten Pflanzen (2 d, e) waren überraschend. Ob der Pilz besondere Bedingungen an seinen Wirt stellt (also in dem vorliegenden Falle die Pflanzenteile vielleicht zu schnell vertrockneten) oder ob andere Ursachen, z. B. das starke Auftreten von *Cytospora chrysosperma,* dafür verantwortlich zu machen sind, kann vorerst noch nicht gesagt werden. Bei Laboratoriumsversuchen ergab sich, daß die Myzelien von *Dothichiza populea* und *Cytospora chrysosperma* auf derselben Malzextraktagarplatte nicht ineinander wachsen, sondern nach Wochen noch in einem Abstand von etwa 4 mm verharren. Ob hier eine antibiotische Wirkung oder eine unterschiedliche Säureproduktion, die zu einer gegenseitigen Hemmung führen, vorliegen, muß vorderhand noch offen bleiben.

4. Der Verlauf der Krankheit und die Vorbedingungen für ihr Auftreten

Wie wir gesehen haben, kann *Dothichiza populea* sich in der Rinde von gut wachsenden Pflanzen nur während der Vegetationsruhe weiter ausbreiten. Die hierbei auftretenden Schäden führen, von dem Befall an dünneren Zweigen abgesehen, zu lokal begrenzten Wundstellen, die bis zum Ende der Vegetationsperiode meist überwallen. Wenn wir trotzdem sehr starke Ausfälle durch den Pilz beobachten, so scheinen vielfach noch weitere Faktoren außer dem Pilzbefall daran beteiligt zu sein. Am meisten fallen die Schäden an Jungpflanzen ins Gewicht, die nach dem ersten oder zweiten Jahre versetzt wurden. Durch das Versetzen sind die Pflanzen, wenn auch nur vorübergehend, in einem „Schwächezustand" (s. auch Delacroix 1906, Hedgcock und Hunt 1916, Richter 1933, Klebahn 1937, Van Vloten 1938,

GOIDANICH 1940); die Gegenreaktionen gegen den eingedrungenen Pilz, die mit dem Wachstum der Pflanze beginnen, erfolgen langsamer. Der Pilz kann sich infolgedessen weiter in der Pflanze ausbreiten, und es wird zu einer stärkeren Schädigung der befallenen Pflanzen kommen, die unter Umständen zu ihrem Absterben führt. Solche Pflanzen sind oft von den Fruchtkörpern des Pilzes geradezu übersät. In diesen Fällen sind die sonst auftretenden typischen „Rindenschilder" und „Brandstellen" nicht zu finden.

Weitere Ursachen, die zu einer „Schwächung" der Pflanzen führen, dürften Trocknis, stauende Nässe, schlechte Standorte und vor allem Frosteinwirkungen sein. Nicht immer werden die genannten Ursachen rechtzeitig erkennbar sein. Beobachtungen über Frostschäden im Mai, also zu Beginn der Vegetationszeit, mit nachfolgendem starken *Dothichiza*-Befall machten GOIDANICH (1940) und TER PELWIJK und BRINK (1946). Wir konnten hingegen auch ein starkes Auftreten von *Dothichiza* im Frühjahr 1953 an *Populus robusta* nach vorangegangenen Frostschäden im September 1952, also am Ende der Vegetationszeit, beobachten (s. auch RASCHKE 1952). Im Oktober 1952 zeigten die Pflanzen die bekannten Frosterscheinungen, am 19. Mai 1953 waren um die Blattnarben teils schwarze eingesunkene Flecken vorhanden (Abb. 9), teils auch schon „Rindenschilder" mit meist noch geschlossenen Pykniden von *Dothichiza populea* (Abb. 10). In der Nähe stehende andere Sorten hatten unter dem Frost nicht gelitten und waren unbefallen.

Abb. 9. Um Blattnarbe eingesunkener schwarzer Fleck nach vorangegangenem Frühfrost. Anfangsstadium von *Dothichiza*-Befall? (Bild BBA-MH 88 a 32)

Sind durch den *Dothichiza*-Befall und durch hinzukommende weitere Faktoren, wie extreme Klimabedingungen oder standörtlich bedingte Einflüsse die Pappeln so stark geschädigt, daß die Schadstellen bis zum Eintritt der Vegetationsruhe nicht mehr überwallt werden, so kann dies unter Umständen zu einem „krebsigen" Holzwachstum führen (Abb. 11). In diesem Falle haben wir den Übergang vom „Rindenbrand" zum „Baumkrebs", der hier aber nicht durch den Pilz allein bedingt ist, sondern durch das Zusammenkommen von Pilzbefall und weiteren Einwirkungen.

5. Infektionswege und Infektionszeit des Pilzes

Auf Grund der durchgeführten Infektionsversuche ist nicht daran zu zweifeln, daß der Pilz ein Wundparasit ist, so daß die Möglichkeit des Eindringens durch mechanisch hervorgerufene Wunden nicht mehr weiter diskutiert zu werden braucht.

Durch zahlreiche Beobachtungen, u. a. auch an dem oben geschilderten Beispiel des starken *Dothichiza*-Befalls nach Frühfrösten, konnte festgestellt

links

Abb. 10. „Rindenschild" auf frühfrostgeschädigten Pflanzen mit konzentrisch angeordneten *Dothichiza*-Pykniden um die vermutliche Eintrittsstelle des Pilzes — die Blattnarbe (Bild BBA-MH 88 a 04)

rechts

Abb. 11. Durch *Dothichiza* hervorgerufenes „krebsiges" Holzwachstum. Noch darüberliegende Rinde wurde vor der Aufnahme abgenommen

werden, daß für das Eindringen des Pilzes in die Rinde den Blattnarben Bedeutung zukommt (s. Abb. 9 u. 10). Auch bei stark von Rost befallenen Pflanzen tritt später des öfteren *Dothichiza* auf. Durch den rostbedingten frühen Blattfall scheint das Trennungsgewebe der Blattnarben nicht schnell genug gebildet zu werden, so daß für den Pilz hier Eintrittsmöglichkeiten gegeben sind.

Auch Detmers (1923) konnte beobachten, daß bei braunen Verfärbungen um die Blattnarben hier später *Dothichiza*-Pykniden auftraten. Die Knospen selbst waren jedoch nicht angegriffen. Goidanich (1940) machte dieselbe Feststellung; auch er konnte in der Nähe der Blattnarben keine Verletzungen feststellen. Hedgcock (1927) berichtet, wie bereits erwähnt, über künstliche Infektionen mit Sporenaufschwemmungen an Blättern, von denen der Pilz dann durch die Blattstiele in die Rinde eingedrungen und im nächsten Frühjahr einen typischen „canker" hervorgerufen haben soll. Eigene, allerdings nur wenige Versuche verliefen negativ. Auch Regler (1952) und Schönhar (1952) konnten die Angaben von Hedgcock nicht bestätigen.

Wir haben weiterhin im Herbst 1952 durch mehrmaliges Bestreichen von frischen Blattnarben mit einer Sporenaufschwemmung versucht, *Dothichiza*-infektionen zu erhalten. Diese Versuche verliefen jedoch negativ, d. h. es trat kein erkennbarer *Dothichiza*-Befall auf.

Wenn wir auch nicht glauben, daß der Pilz durch die Blätter in die Rinde eindringen kann, so halten wir auf Grund unserer Beobachtungen und

der angeführten Beispiele, trotz der negativ ausgefallenen Versuche, die Frage des Eindringens des Pilzes durch die Blattnarben in die Rinde für so wichtig, daß hierzu erneut Untersuchungen gemacht werden müssen.

Auch über die Infektionszeit wissen wir noch recht wenig Bescheid. Von einigen Forschern wird, da die Pyknidien- und Sporenbildung im Frühjahr sehr stark ist, diese Zeit als besonders günstig für eine Infektion angesehen; ein experimenteller Beweis ist hierfür aber noch nicht erbracht worden.

Da unsere künstlichen Impfungen, die während der Monate April bis Juli 1952 durchgeführt wurden, kaum, und nur die Impfungen im Spätsommer und Herbst 1952 und im Februar und März 1953 Erfolge zeitigten, scheint uns für die natürlichen Infektionen nur die Zeit vom September bis etwa März von Bedeutung zu sein. Auch das geschilderte Beispiel der Frühfröste mit darauffolgendem *Dothichiza*-Befall, sowie Beobachtungen in einem Kamp, in welchem Ende September 1952 noch eine Bodenbearbeitung durchgeführt wurde, bei der offensichtlich Verletzungen der Pflanzen stattfanden (die von *Dothichiza* befallenen Stellen waren in einer Höhe bis zu 25 cm und dann wieder von 55 bis 65 cm), weisen darauf hin, daß die Infektionen im Herbst oder Winter vor sich gegangen sind. Trotz Versetzen und nachfolgender Sporenimpfungen Ende April konnten zu dieser Zeit keine „positiven" Infektionen mehr erzielt werden. Etwaige besondere klimatische Bedingungen können allerdings von Einfluß auf die oben erwähnten Zeitpunkte sein. Dies zeigen Berichte von GOIDANICH (1940) und TER PELKWIJK und BRINK (1946), wobei nach Spätfrostschäden im Mai noch starker *Dothichiza*-Befall auftrat. Auch für die im Abschnitt 2 d (Seite 198) dieser Arbeit erwähnten Fälle an geköpften Pappeln scheinen „besondere Bedingungen" geherrscht zu haben, da die Schäden nur an den im Kamp Kattenbühl stehenden Pflanzen auftraten, jedoch nicht an denen im Botanischen Garten und in Mitscherlich-Gefäßen. Für das in Abschnitt 3 (Seite 200) erwähnte Beispiel des Auftretens von acht „Rindenschildern" im Jahre 1953 an *Populus canescens*, die im Frühjahr 1952 geimpft wurden, kann vorerst noch keine Erklärung gegeben werden.

Erwähnenswert sind noch die Infektionen, die VAN VLOTEN (1938 a S. 74) im Mai gelungen sind. Es ist aber zu berücksichtigen, daß es sich hierbei um Myzelimpfungen handelte, so daß sie in diesem Zusammenhang außer Betracht bleiben müssen.

6. Sortenanfälligkeit der Pappeln gegenüber *Dothichiza populea*

Als gegen *Dothichiza populea* anfällig berichteten HILEY (1923), DUFRÉNOY (1930), RICHTER (1933), VILL (1935), BAVENDAMM (1938), PETRI (1938, 1939), GOIDANICH (1940), TER PELKWIJK und BRINK (1946) und HERBIGNAT (1950): *Populus angulata, P. angulata var. erecta, P. berolinensis, P. brevifolia, P. canadensis, P. deltoides, P. deltoides var. missouriensis, P. Eugenei, P. gelrica, P. marilandica, P. nigra var. italica, P. Petrowskiana, P. robusta, P. serotina, P. simonii* und *P. simonii var. fastigiata.* Diesen Beobachtungen kann teilweise nur bedingter Wert zugemessen werden, da es

nicht sicher ist, ob alle Pflanzen richtig bestimmt wurden. Gründliche Versuche in Richtung der Resistenz der Pappeln wurden nur durch Van Vloten (1938) gemacht. Seine Resistenzprüfungen ergaben, daß *Populus Fremontii, P. brabantica, P. marilandica, P. Eugenei, P. regenerata, P. regenerata var. erecta* und *P. serotina var. erecta* sehr resistent gegen den Pilz sind, während er *Populus deltoides var. missouriensis*[5]), *P. Koreana, P. laurifolia, P. Rasumowskyana* und *P. tacamahaca* als besonders anfällig bezeichnet. *P. nigra L. var. typica* Schneider, *P. deltoides var. missouriensis*[5]), *P. robusta, P. nigra betulifolia, P. suaveolens, P. tristis* und *P. trichocarpa* werden als leicht anfällig angegeben.

Tabelle 4

„Positive" *Dothichiza*-Infektionen in Prozenten der im Herbst 1952 durchgeführten Impfungen, geordnet nach Sorten und Kreuzungen*)

Sorten und Kreuzungen	durchgeführte Impfungen	davon „positiv"	„positive" Infektionen in Prozenten der vorgenommenen Infektionen
Deltoides	28	25	89
Robusta	410	152	37
Tremula (Ostdeutschland) × *Tremuloides* 19/51	51	12	23,5
Alba × *Tremuloides* (Canada) 83/51	39	8	20,5
Tremula (Tannenhöft) × *Tremuloides* (Canada) 55/51	15	2	(13)
Canescens 207 FA. Schleswig aus Wurzelbrut	143	13	9
Tremula mit *Canescens*-Einschlag × *Tremuloides* 71/51	21	1	(5)
Tremula × *Tremuloides* 101/51	18	0	0

*) Die Kreuzungen stellte Herr Dr. Grehn, Schmalenbeck, zur Verfügung.
( ) Den eingeklammerten Zahlen haften Unsicherheiten an

Nach unseren Erfahrungen und Beobachtungen erscheint *Populus robusta* besonders gefährdet (s. Tabelle 2, Seite 196, Tabelle 4, und Zycha und Schmidle 1953). Allerdings muß dabei berücksichtigt werden, daß nach Angaben des Deutschen Pappelvereins etwa 50 % der in Deutschland angebauten Pappeln *Populus robusta* sind, so daß sich das teilweise starke Auftreten des Pilzes an dieser Sorte vielleicht auf deren vermehrten Anbau zurückführen läßt. Unsere Infektionsversuche waren ursprünglich nicht als Resistenzversuche gedacht; vor allem deshalb nicht, weil es anfangs an dem nötigen Pflanzenmaterial fehlte, späterhin zwar sehr viele Sorten und Kreuzungen verwendet wurden, jedoch immer nur einzelne Exemplare davon zur Ver-

5) Verschiedene Herkünfte.

fügung standen. Soweit es sich um eine größere Anzahl von Sorten handelte, die bei den Impfungen verwendet wurden, werden die Ergebnisse in Tabelle 4 zusammengefaßt. Als besonders anfällig sind hier *Populus deltoides*[5]) zu nennen, gefolgt von *Populus robusta*. Auffällig ist der niedrige Befall von *Populus canescens* mit noch nicht 9 %.

Wenn auch durch Resistenzprüfungen nicht die letzte Rettung vor *Dothichiza*-Schäden erwartet werden kann, so wäre es doch zweckmäßig, weitere Untersuchungen über die Anfälligkeit von Sorten und Klonen anzustellen, zumal VAN VLOTEN (1938) hierzu gangbare Wege aufgezeigt hat.

7. Bekämpfungsmaßnahmen

Auf das Abschneiden und Verbrennen von *Dothichiza*befallenen Zweigen, Ästen und Pflanzen, sowie die Vermeidung des Anbaues von Pappeln in ungünstigen Standorten, braucht nicht besonders hingewiesen zu werden.

Über eine chemische Bekämpfung fehlen in Deutschland ausreichende Erfahrungen. Im Forstamt Karlsruhe sollen in den dreißiger Jahren durch allmonatliches Bespritzen der Pflanzen in der Vegetationszeit mit „2- bis 4 %iger Kupferkalkbrühe" gute Resultate erzielt worden sein. Eine solche Dauerbehandlung ist aber letzten Endes eine Rentabilitätsfrage. Unter den neueren Arbeiten berichtet HOUTZAGERS (1951) über Versuche an *Populus deltoides var. missouriensis*, die in monatlichen Intervallen vorbeugend mit 1 bis 1,5 %iger Bordeauxbrühe und einem organischen Quecksilberpräparat von 0,1 bis 0,2 % durchgeführt wurden. Danach zeigten die Spritzungen Mitte Mai 1951 bessere Ergebnisse als solche, die Mitte August 1950 durchgeführt wurden.

Es ist vorgesehen, auch hierüber Versuche anzustellen.

8. Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Das durch *Dothichiza populea* an Pappeln hervorgerufene Krankheitsbild wird beschrieben.

2. Zahlreiche künstliche Sporen- und Myzelimpfungen wurden an gut im Freiland wachsenden, an frisch versetzten, an geköpften und an künstlich geschwächten Pappeln vorgenommen.

3. Die Sporenimpfungen an gut im Freiland wachsenden Pflanzen erfolgten in verschiedenen Monaten; sie ergaben von April bis Juli jeweils höchstens 10 % erfolgreiche Infektionen. Demgegenüber betrug der Prozentsatz der „positiv" verlaufenden Sporenimpfungen im September, Oktober, Februar und März — also im wesentlichen während der Vegetationsruhe — erheblich mehr, und zwar maximal 38,5 % (im Oktober).

Was die Zahl der „positiven" Infektionen bei Myzelimpfungen am Ende der Vegetationszeit und während der Vegetationsruhe anbetrifft, so war diese wesentlich größer; hier wurden maximal 64 % (im Oktober) erreicht.

4. Während an frisch versetzten Pappeln die Ende April mit Sporen vorgenommenen Impfungen zu keinen „positiven" Infektionen führten, wurden mit parallel dazu vorgenommenen Myzelimpfungen solche bis zu 80 % erzielt.

5. Die bei den Impfungen durch den Pilz in der Rinde der Pappeln hervorgerufenen Schadstellen hatten eine Länge von 2 bis 8 cm.

6. Impfungen mit *Dothichiza*-Sporen an geköpften und an künstlich geschwächten Pflanzen und Pflanzenteilen während der Vegetationszeit riefen nur kleine Schadstellen hervor. Dagegen tritt an solchen Pflanzen durch natürliche Infektion sehr stark *Cytospora chrysosperma* auf.

7. Die eigenen Impfversuche wurden mit den Impfergebnissen von Van Vloten verglichen, wobei sich weitgehende Übereinstimmung ergab.

8. Da die künstlichen Infektionen an gut wachsenden Pflanzen nur begrenzte Wundstellen hervorrufen, müssen, um die teilweise starken Ausfälle der Pappeln durch den Pilz zu erklären, weitere Faktoren für diese Ausfälle verantwortlich gemacht werden. Hierfür kann eine „Schwächung" der Pflanzen durch Versetzen, Trocknis, schlechte Standorte, stauende Nässe, Frosteinwirkungen usw. verantwortlich gemacht werden.

9. Es ist somit festzustellen, daß, wenn nicht besondere Bedingungen hinzukommen, nur Infektionen in der Zeit von September bis März für die Pappeln gefährlich sind.

10. Als Eintrittspforten des Pilzes in die Pflanze kommt, neben mechanischen Verletzungen der Rinde, den Blattnarben Bedeutung zu.

11. Als besonders anfällig gegen *Dothichiza populea* erwies sich *Populus deltoides* mit 89 % und *P. robusta* mit 37 % „positiven" Infektionen, während *P. canescens* nur geringen Befall aufwies.

Literaturverzeichnis

Anonym, 1931: Nachrichtenbl. Drsch. Pflanzenschutz **11**, 59, 71, 80.

— —, 1932: Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutz **12**, 59, 68.

— —, 1932: Les maladies du peuplier. Bull. Soc. Centr. Forest. Belgique **39**, 502—512.

Appel, O. und Westerdijk, J., 1919: Durch Pilze hervorgerufene Pflanzenkrankheiten. Ztschr. Pflanzenkrht. **29**, 176—186.

Babel, A., 1931: Pappelsterben. Mitt. Dtsch. Dendrol. Ges. **43**, 415—416.

Bavendamm, W., 1936: Der Rindenbrand der Pappeln. Tharandter forstl. Jahrb. **87**, 177.

Breny, 1946: *Dothichiza populea*. Bull. Soc. for. Belg. **53**, 284—288. (Zit. n. Rev. appl. Mycol. **25**, 586.)

Ciferri, R., 1951: Malattie crittogamiche del Pioppo in Italia. Atti. Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. **8**, 205—229.

Davis, S. H., 1942: Poplar canker. On the susceptibility of various poplar species. Bull. Morsis Arbor. Univ. Pa. **4**, 28. (Zit. n. Rev. appl. Mycol. **22**, 183.)

DAY, W. R. und PEACE, T. R., 1934: Poplar canker. Quart. Journ. of Forestry **28**, 1—12.

DELACROIX, G., 1903: Sur le parasitisme de *Dothichiza populea* Sacc. et Briard sur diverses espèces de Peupliers. Bull. Soc. Mycol. France **19**, 353—355.

— —, 1906: Une maladie du Peuplier de la Caroline. Bull. Soc. Mycol. France **22**, 239—252.

DETMERS, F., 1923: *Dothichiza* canker on Norway poplar. Phytopath. **13**, 245—247.

DUFRÉNOY, J., 1930: Les maladies du Peuplier. Impr. Commerc. Perette, Limoges. (Zit. n. Rev. appl. Mycol. **10**, 418.)

FOËX, E., 1923: Une maladie du peuplier. Rev. hort. **95**, 476—477.

GOIDANICH, G., 1940: La „Necrosi corticale" del pioppo causata da *Chondroplea populea* (Sacc. et Briard) Kleb. Riv. cellulosa **18**, 1—29.

HAMPFER, M., 1931: Neue Seuche an Pappeln. Gartenwelt **35**, 525.

HEDGCOCK, G. G., 1927: *Dothichiza populea* and its mode of infection. Phytopath. **17**, 545—547.

— — and HUNT, U. R., 1916: *Dothichiza populea* in the United States. Mycologia **8**, 300—308.

HERBIGNAT, A., 1950: Considération générale sur le Peuplier. Types à cultiver en Belgique. Contrôle variétal. Rappel de quelque principes fondamentaux de sa culture. Bull. Soc. For. Belg. **57**, 1—41.

HILEY, W. E., 1923: Fungus and bacterial diseases of poplars. Forestry Comm. Bull. **5**, 47—50.

HOUTZAGERS, G., 1951: In: Rapport de la Cinquième Session la Commission internationale du Peuplier et Compte Rendu du Quatrième Congrès international du Peuplier. S. 67.

KIŠPATIĆ, J., 1950: Prilog poznavanju parasitiske mikoflore Hrvatske. Glasn. hrv. prirodosl., Ser. **II/B**, **2—3**, 44—50. (Zit. n. Rev. appl. Mycol. **30**, 507.)

KLEBAHN, H., 1933: Über den Bau und Konidienbildung bei einigen stromatischen Sphaeropsideen. Phytopath. Ztschr. **6**, 229—304.

— —, 1937: Untersuchungen über *Chondroplea populea* (*Dothichiza populea* Sacc. et Br.). Ztschr. Pflanzenkrht. **47**, 38—52.

KOTTHOFF, P., 1931: Der Rindenbrand der Pappeln. Landwirtsch. Ztg. f. Westfalen u. Lippe **88**, 497—498.

KRIEGER, K. W., 1895: Fungi Saxonici Exsiccati No. 1100, Königstein a. E.

LANZONI, 1932: Les maladies du Peuplier. Bull. Soc. Centr. Forest Belgique **39**, 502—512.

— —, 1939: Un attacco del cancro del Pioppo in provincia di Parma (*Dothichiza populea* Sacc. et Br.) „La giovane montagna" **40**. (Zit. n. GOIDANICH, 1940.)

LIESE, J., 1931. Starke Schäden durch den Pappelkrebs. Dtsch. Forstztg. **46**, 465—466.

MOSS, E. H., 1922: Observations on two poplar cankers in Ontario. Phytopath, **12**, 425—427.

MÜLLER, R., 1953: Das wissenschaftliche Institut des Deutschen Pappelvereins in Brühl bei Köln. Drsch. Pappelverein e. V., Bonn, 1—35.

OUDEMANS, C. A., 1889: Contributions à la flore mycologiques des Pays Bas XIII. Ned. Konidk. Arch. Ser. **5**, 42.

PETRI, L., 1938: Rassegna dei casi fitopatologici osservati nel 1937. Boll. R. Staz. Pat. Veg. Roma, N. S. **18**, 1—66.

— —, 1939: Rassegna dei casi fitopatologici osservati nel 1938. Boll. R. Staz. Pat. Veg. Roma, N. S. **19**, 115—188.

RASCHKE, G., 1952: Frühfröste an Pappeln. Die Holzzucht **13**, 5—6.

REGLER, W., 1952: Die wichtigsten pilzlichen und bakteriellen Erkrankungen der Pappeln. Der Wald, Berlin, Sonderheft „Die Pappel" 33—38.

Richter, H., 1933: Krebs und Rindenbrand der Pappel. Mitt. Dtsch. Dendrol. Ges. **45**, 262—267.

Saccardo, P. A., 1884: Sylloge Fungorum **3**, Patavii, 672.

Schmidle, A., 1953: Die *Cytospora*-Krankheit der Pappel und die Bedingungen für ihr Auftreten. Phytopath. Ztschr. **21**, 83—96.

Schönhar, S., 1952: Untersuchungen über den Erreger des Pappelrindentodes. Allg. Forstztschr. **49**.

Schwerdtfeger, F., 1949: Pappelvorkommen und Pappelkrankheiten im nordwestdeutschen Walde. Ergebnisse einer Schädlingsumfrage. Pappelwirtsch. Mitt. d. Dtsch. Pappelverein **2**, 29—43.

— —, 1951: Pappelkrankheiten und Pappelschutz in Hesmer, H., „Das Pappelbuch". Dtsch. Pappelverein, Bonn, 155—186.

Ter Pelkwijk, A. J. und Brink, G., 1946: Verslag van het onderzoek 1943—1945 en 1946 naar den Populierenkanker. Meded. ned. Heidemaatsch. **2**, 1—21.

Vanderwalle, R., 1950: Observations et recherches effectuées à la Station de phytopathologie de l'État penant l'année 1949. Bull. Inst. agron. Gembloux **18**, 179—189. (Zit. n. Rev. appl. Mycol. **30**, 216.)

Van Vloten, H., 1938: Het onderzoek naar de vatbarheid van populieren voor aantasting door *Dothichiza populea* Sacc. et Briard. Tijdschr. Ned. Heidemaatsch. 1—18.

— —, 1938 a: De Ziekte van populieren veroorzaakt door *Dothichiza populea* Sacc. et Briard. Jaarboek der Ned. Dendrol. Ver. 72—75.

Vill, 1935: Der Rindenbrand an Pappeln. D. Dtsch. Forstwirt **17**, 870.

Voglino, P., 1907: I funghi parassiti della piante osservati nella provincia di Torino e regioni vicini nel 1906. Ann. R. Accad. Agr. di Torino **49**, 175—202.

— —, 1910: I parassiti delle piante osservati nella provincia di Torino e regioni vicine nel 1909. Ann. R. Accad. Agr. di Torino **52**, 277—306.

— —, 1911: I nemici del Pioppo canadense di Santena. Ann. R. Accad. Agr. di Torino **53**, 325—377.

Zycha, H. und Schmidle, A., 1953: Pilzkrankheiten der Pappel. Flugblatt M 14 d. Biol. Bundesanstalt, Braunschweig.

Aus der Holzversuchsanstalt, Bratislava

Über die Entstehung der Mondringigkeit der Eiche

Von

J. Paclt

Mit 4 Abbildungen

Im allgemeinen ist die Variabilität in der Bildung des sogenannten echten Kernes im Bereich einer und derselben Art eine bedeutend niedrigere als die des Falschkernes. Dies hängt offenbar mit der spontanen Entstehung des natürlichen Kernes zusammen. Allein durch den Verlauf der Begrenzungs- (Marginal-) Linie des echten Kernes und durch die Kern- bzw. Splintbreite (Durchmesserverkernung) oder den davon als Querflächen- bzw. Gesamtver-

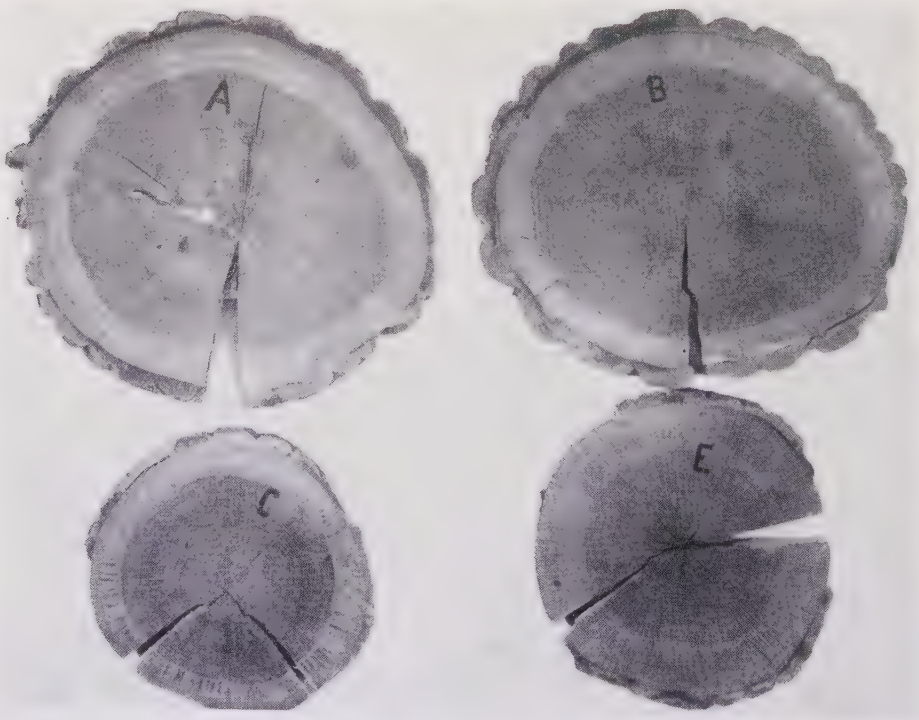


Abb. 1—2. Kerne von Zerr-Eiche aus der Slowakei. Normaler (großkerniger) Typus (A, B, C) und Übergang zum kleinkernigen Typus (E). (Orig.)

kernung berechneten Kernanteil kann bei der Eiche die ordentliche (reguläre) Verkernungsvariabilität ausgedrückt werden. Für eine idonomische Typologie, wie wir sie für den falschen Kern der Buche vorgeschlagen haben (Paclt 1953), bietet also die Variabilität der echten Kerne keine Anhaltspunkte.

Die Zerr-Eiche (*Quercus cerris* L.) weist unter den verschiedenen europäischen Arten der Gattung vermutlich den höchsten Grad der Verkernungsvariabilität auf. Lámfalussy (1950) berichtet bereits über eine „weiße" Zerr-Eiche, die von den ungarischen Bauern als eine besondere „Art" angesehen wird und sich durch gewisse bessere mechanische Eigenschaften des Holzes auszeichnen soll. Die „weiße" Zerr-Eiche soll in der Gegend zwischen der

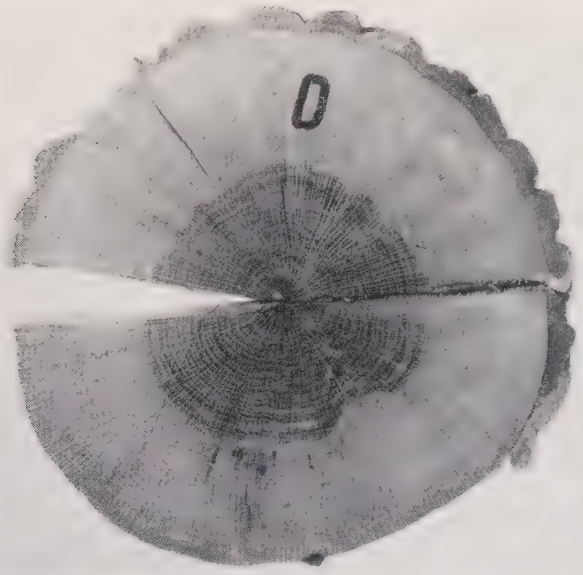


Abb. 3. Kern von Zerr-Eiche aus der Slowakei (Vígľaš). Kleinkerniger Typus. (Orig.)

Donau und Maros sowie in den Transdanubien vorkommen. Nach einer freundlichen Mitteilung meines Kollegen Došek von der hiesigen Anstalt begegnet man einem ähnlichen „Dimorphismus" selbst in den slowakischen Beständen der Zerr-Eiche. Der eine, und zwar in der Slowakei dominierende Typ (Oekotyp?) von *Quercus cerris* (Abb. 1—2) kennzeichnet sich durch einen größeren Kern mit der Splintfläche von 27 bis 48 % der Gesamtquerfläche (durchschnittlich 37 %), während der andere einen kleineren Kern mit der Splintfläche von bis 70 % besitzt (Abb. 3). Der letztere Typ kommt stellenweise an den südlichen Abhängen des mittleren Teiles des Štiavnica-Mittelgebirges und des westlichen Teiles des Slowakischen Erzgebirges (Vígľaš usw.) vor und ist wahrscheinlich mit der „weißen" Zerr-Eiche aus

Ungarn identisch. Natürlich gibt es auch eine Reihe von Übergangsformen (z. B. Abb. 2 unten).

Wir betrachten nun die äußerst seltenen Fälle, welche der eigentlichen Verkernungsvariabilität keineswegs entsprechen. Es ist klar, daß jede außerordentliche Kernbildung nur auf einige drastisch wirkende pathogene Faktoren der Umwelt zurückgeführt werden darf. Der sog. „Mondring" ist ein typischer Fall dieser ungewöhnlichen „Variabilität". So ist z. B. eine spontane Entstehung des Mondringes kaum anzunehmen. Es ist bekannt, daß die äußere Begrenzung des Mondringes der Eiche immer in Jahren mit strengen Wintern auftritt (1709, 1879). In diesem Sinne haben HENRY (1896) und

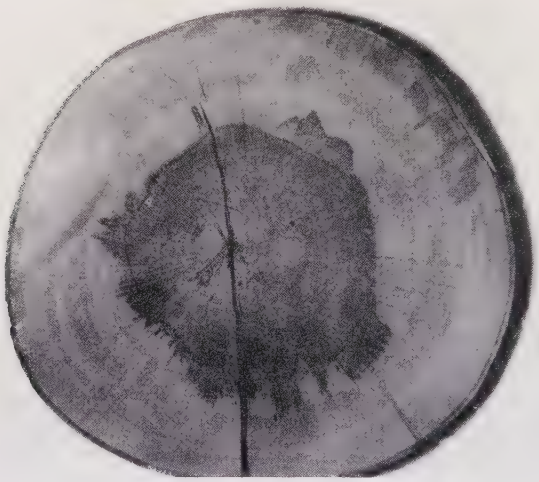


Abb. 4. Mondring-ähnliche Naßjahresringe einer Rotbuche aus der Slowakei. Merke die Berührung des Falschkernmantels mit den Naßjahresringen. (Orig.)

MER (1896) über die Ursache der Mondringigkeit als Folge der Schädigung der Bäume durch starke Winterfröste publiziert. Diese Annahme muß für durchaus richtig gehalten werden.

Über den Vorgang der Mondringbildung schreibt MER (1896) wie folgt (Auszug nach TRENDELENBURG): Im jeweils ältesten Splintjahrring wird die Stärke in Gerbstoff umgewandelt; dieser befindet sich zunächst in den Zellhohlräumen. Er wandert dann immer mehr in die Zellwände, zumal die der Hartfasern ein. Durch den starken Frost wurden nun die lebenden Zellen des ganzen Splintes getötet oder zunächst auf das schwerste geschädigt. Nur der äußerste Jahrring blieb durch seine höhere Zellsaftkonzentration am Leben. Die Speicherstoffe des Splints sind nun unbeweglich geworden; im Frühjahr 1880 standen nur die des letzten Jahrrings zum Aufbau des Frühholzes zur Verfügung, was sich in der Verringerung der Gefäßweite und in der schwachen Ringbildung äußert. Zudem hat die Kälte sicher auch Krone und Wurzeln geschädigt. In der ganzen getöteten Splintzone kann die Umwandlung der Stärke in Kernstoffe nicht eintreten, so daß sie zum Mondring wird.

Eine eingehende Prüfung dieser Annahme zeigt jedoch, daß sich der Vorgang nicht auf diese Weise abspielen kann. Nach dem heutigen Stand unserer Kenntnisse hat erstens eine Schädigung des lebendigen Laubsplintholzes durch Fröste stets eine gummöse Abwehrreaktion (im Sinne von GÄUMANN) des lebendigen Parenchyms zur Folge (vgl. den Frostkern). Und warum sollte zweitens erst eine Frostschädigung aus dem Jahre 1879 (!) eine retroaktive Hemmungswirkung auf die seit 1865 (!) spontan ausgelöste Kernbildung haben? Drittens nimmt der äußere Kern des von MER beschriebenen Stammes gerade nur drei Jahrringe (1879—1881) ein und beweist damit seine pathologische Entstehung ohne weiteres. Bei der Mondringigkeit erscheint also der äußere Kern abnorm, nicht der eigentliche Mondring (innerer Splint). Man muß sich wundern, mit welcher Kritiklosigkeit einige neuere Autoren die alte Ansicht von MER vorbehaltlos akzeptiert haben.

Die Mondringigkeit ist auch bei den Nadelhölzern (*Larix*, *Thuja*) beobachtet worden (vgl. TRENDELENBURG). Eine Art von Mondring haben wir auch bei der Rotbuche (*Fagus sylvatica* L.) feststellen können; es sind dies Naßjahresringe, d. h. durch das erste Stadium der Verkernung charakterisierte Jahresringe im Splint eines wohl durch den Frost beschädigten Stammes mit einem alten Falschkern (Abb. 4).

Literaturverzeichnis

GÄUMANN, E., 1946: Pflanzliche Infektionslehre. Birkhäuser, Basel.

HAVELÍK, K., 1925: Warum ist der falsche Kern der Buche nicht von Jahresringen begrenzt, wie der natürliche bei anderen Bäumen? Ber. Dtsch. Bot. Ges. **43**, 128—132.

HENRY, E., 1896: Sur la lunure ou double aubier du chêne. Bull. Soc. Sci. Nancy **14**, 68.

LÁMFALUSSY, S., 1950: A vöröstölgy magyarországi viszonylatban való telepitése, faanyagának kiértékelése és a hazai tölgyekkel és cserrel való összehasonlítása. Agrártudom. Egyetem erd. kar. Évkön. (Sopron) **1**, 189—197.

MER, E., 1896: La lunure du chêne. Bull. Soc. Sci. Nancy **14**, 127.

PACLT, J., 1953: Zjadernění a typologie nepravého jádra u buku. (Duraminization and the typology of the false heart-wood in the beech.) Preslia **25**, 211—220.

TRENDELENBURG, R., 1939: Das Holz als Rohstoff. Lehmann, München u. Berlin.

Kurze Mitteilungen

Zur Frage nach den Störungen des Stoffwechsels in den Blättern vergilbungskranker Zuckerrüben

Von

Luise Stange

Beim Studium der Veränderungen in den Blättern von Zuckerrüben, die mit dem Vergilbungsvirus infiziert waren, stellte Quanjer (1934, 1936) mit Hilfe der Sachs'schen Jodprobe eine Ansammlung von Stärke in der Spreite fest. Daneben beobachtete er in den Siebröhren der Nerven und Blattstiele das Auftreten einer gelben, meist homogen, selten körnig erscheinenden Substanz unbekannter chemischer Natur („Phloemgummosis") und nimmt an, daß in vergilbungskranken Pflanzen die Ableitung der Assimilationsprodukte mechanisch durch eine Verstopfung der Leitungsbahnen verhindert sei. Klinkenberg (1945) fand, daß die Stärkeanhäufung im Mesophyll bereits auftrat, bevor Veränderungen im Siebteil nachzuweisen waren. Sie nennt als Ursache folgende beiden Möglichkeiten: 1. Die Mesophyllzellen sind durch die Virusinfektion so verändert, daß bereits hier der Assimilatetransport von Zelle zu Zelle verhindert ist, oder 2. verändert das Virus die Siebgefäße so, daß ihre Funktion gestört ist, ohne daß zunächst sichtbare Veränderungen auftreten. Bei Bestimmungen des Gehaltes an Stärke, Saccharose und reduzierenden Zuckern in gleichen Sektoren aus jeweils zueinandergehörigen Blatthälften fanden Watson und Watson (1951), daß der Verlust an Kohlenhydraten in Prozent der Trockensubstanz abzüglich Zucker und Stärke nach einer Dunkelperiode aus den Blättern vergilbungskranker Pflanzen ebenso groß war wie derjenige aus den Blättern gesunder Pflanzen. Nach diesen Autoren ist die Ableitung der Assimilate bei den kranken Pflanzen nicht behindert. Statt dessen vermuten sie eine durch Veränderungen in den Blattzellen hervorgerufene Beeinflussung der Enzymsysteme, die die Beziehungen zwischen den einzelnen Komponenten des Kohlenhydrateumbaues

oder ihre Umwandlung in Nicht-Kohlenhydrate kontrollieren. Für eine Verschiebung des Verhältnisses von Assimilation zu Atmung zugunsten einer gesteigerten Kohlenhydrateproduktion liegen keine Anhaltspunkte vor. Van Riemsdijk (1935) stellte eine gesteigerte Atmung in den Blättern vergilbungskranker Pflanzen fest.

Im September und Oktober 1951 und August und September 1952 wurden in der Forschungsstelle für Zuckerrübenbau, Holtensen, Untersuchungen über den Gehalt an den beim Umbau und der Ableitung der Assimilate beteiligten Zuckern in den einzelnen Abschnitten gesunder und infizierter Blätter durchgeführt. Dabei wurde von dem Gedanken ausgegangen, daß unter Umständen aus einem veränderten Gehalt an den verschiedenen Komponenten des Kohlenhydrateumbaues auf Störungen im Fermentsystem geschlossen werden kann und weiterhin aus der Verteilung der einzelnen Zucker entlang des Ableitungsweges Auskunft über den Assimilatetransport zu erhalten ist. Ergänzt wurden diese Untersuchungen durch Bestimmungen des Eiweißgehaltes und der Eiweißzusammensetzung.

Das Untersuchungsmaterial lieferten Zuckerrüben der Sorte Kleinwanzleben E aus gleichartigen Parzellen des Holtenser Versuchsfeldes, in denen an einigen Stellen natürliche Spätinfektion eingetreten war. Für jede Probe wurden entweder morgens um 8 Uhr oder abends um 18 Uhr 20 Blätter von 10 Pflanzen unmittelbar vor der Verarbeitung gepflückt. Für die meisten Untersuchungen wurden völlig ausgewachsene Blätter ausgewählt, und zwar für die Probe „gesund" dunkelgrüne Blätter von Pflanzen ohne jegliche Verfärbungs- oder Verdickungserscheinungen und für die Probe „infiziert" Blätter mit von der Spitze ausgehender, ein Viertel bis ein Drittel der Spreite ausmachender Vergilbung von eindeutig vergilbungskranken Pflanzen. Daneben wurden auch jüngere, bei den infizierten Pflanzen noch symptomlose Blätter untersucht. Die Blätter wurden unterteilt in a) apikale Hälfte der Spreite ohne Mittelrippe, b) basale Hälfte der Spreite ohne Mittelrippe und größere Seitennerven, c) Mittelrippe, d) apikale zwei Drittel des Blattstieles, e) basales Drittel des Blattstieles. Von den fein zerschnittenen Proben wurden je 70 g mit 70 cm^3 aqua dest. im Starmix verarbeitet, filtriert und aus dem Filtrat durch zehn Minuten Erhitzen im kochenden Wasserbad das Eiweiß gefällt. Nach erneuter Filtration wurden die Zucker papierchromatographisch bestimmt. Die Trennung erfolgte auf dem Papier Schleicher und Schüll 2043 b aufsteigend mit Phenol (1 % NH_3- und KCN-Zusatz) (Patridge 1948). Jede Saftprobe lief auf sechs Papierbogen. Auf der Hälfte der Papiere wurden Glukose und Fruktose mit Tetrazol (Wallenfels 1950 mit Abwandlungen) identifiziert und nach Herauslösen des Farbstoffes mit Methanol im Eppendorfer Kolorimeter quantitativ bestimmt. Auf den übrigen Papieren wurden Saccharose und Fruktose mit Phloroglucin (Horrocks und Manning 1949) nachgewiesen und direkt auf dem Papier photometriert.

Es ergab sich: In den Spreitenteilen (ohne Mittelrippe) der ausgewachsenen Blätter lag der Gehalt an Saccharose, Glukose und Fruktose bezogen auf das Frischgewicht[1]) an allen Untersuchungstagen und sowohl abends als auch morgens bei den infizierten Pflanzen weit über dem bei den gesunden Pflan-

[1]) Bei Bezug auf Trockensubstanz würden sich bei etwas höherem Trockensubstanzgehalt der infizierten Blätter nur unwesentlich veränderte Verhältnisse ergeben.

zen (für Fruktose bis zum zehnfachen Wert ansteigend). Während in den gesunden Blättern Saccharose, Glukose und Fruktose in ungefähr gleichen Gewichtsmengen vorhanden waren, lagen in den kranken Blättern die Werte für Glukose und Fruktose deutlich über denjenigen für Saccharose. Dieser Befund soll durch Untersuchungen an weiter in ihre histologischen Elemente unterteilten Blättern näher analysiert werden. In der Basishälfte der Spreite war die Differenz zwischen krank und gesund meist etwas geringer als in der Spitzenhälfte, wodurch sich ein Parallelgehen von Zuckeranstieg und äußerer Symptombildung zu erkennen gibt. In den noch symptomlosen Blättern der infizierten Pflanzen war ein geringer Anstieg im Zuckergehalt festzustellen.

In der Mittelrippe und den Stielabschnitten war bei gleichem Saccharose- und Fruktosegehalt und etwa um das Doppelte höherem Glukosegehalt kein Unterschied zwischen kranken und gesunden Blättern zu verzeichnen. Das betraf sowohl Glukose und Fruktose als auch Saccharose, die den Transportzucker darstellen dürfte (vgl. Willam 1945, Wanner 1952). Unter dem Vorbehalt, daß allein aus der Verteilung der Zucker gezogene Schlüsse auf die Ableitung nicht beweisend sind, spricht dieser Befund in Übereinstimmung mit den erwähnten Ergebnissen von Watson und Watson doch dafür, daß zum mindesten in dem hier untersuchten Stadium der Symptombildung die Assimilate aus den infizierten Blättern in dem gleichen Ausmaße abgeleitet werden wie aus den gesunden.

Der Stickstoffgehalt (in % der Trockensubstanz, bestimmt nach Kjeldahl) erreichte bei den ausgewachsenen infizierten Blättern in den Spitzenhälften der Spreiten nur die Hälfte des Wertes in den gesunden Blättern. In den Basishälften war die Differenz geringer, und in den noch symptomlosen Blättern war nur ein leichtes Absinken des N-Gehaltes festzustellen. Es zeigten sich hier also gleichzeitige, aber gegensinnige Veränderungen wie für den Zuckergehalt. Blattertragsbestimmungen ergaben, daß dieses Absinken des N-Gehaltes nicht durch das Ansteigen im Zuckergehalt vorgetäuscht wurde: Der Trockensubstanzertrag lag bei den infizierten Blättern für die Spitzenhälften der Spreiten um 22 % höher als bei den gesunden, nicht aber um 100 %, wie bei vorgetäuschtem Absinken des N-Gehaltes auf die Hälfte gefordert werden müßte. Orientierende papierchromatographische Bestimmungen der nach Hydrolyse des Blatteiweißes anfallenden Aminosäuren zeigten, daß bei einem deutlich herabgesetzten Gehalt im Hydrolysat der infizierten Blätter keine auffällige Bevorzugung einzelner Eiweißkomponenten vorlag. Es erhebt sich die Frage, ob nicht die im Kohlenhydratestoffwechsel beobachteten Störungen in engere Beziehung zum Eiweißabbau gebracht werden müssen.

Eine ausführliche Veröffentlichung der Methoden und Ergebnisse wird in der Zeitschrift „Zucker“ erfolgen[2]).

[2]) Lüdecke, H. und Stange, L., Zucker (im Druck).

Literaturverzeichnis

Horrocks, R. H. und Manning, G. B., The Lancet 1949, 1042.
Klinkenberg, C. H., Meded. Inst. voor Rat. Suikerprod. 15, 31 (1945).
Partridge, S. M., Biochem. Journ. 42, 238 (1948).
Quanjer, H. M., Tijdschr. PlZiekt. 40, 201 (1934).
— —, Tijdschr. PlZiekt. 42, 45 (1936).
van Riemsdijk, J. F., Tijdschr. PlZiekt. 41, 317 (1935).
Wallenfels, K., Naturwiss. 37, 491 (1950).
Wanner, H., Planta 41, 190 (1952).
Watson, M. A. und Watson, D. J., Ann. appl. Biol. 38, 276 (1951).
Willam, A., Publ. Inst. Belge Amél. Betterave 13, 256 (1945).

Aus dem Institut für Physiologische Botanik
der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Braunschweig

Untersuchungen über die Einwirkung von Sulfonamiden und Sulfonen auf Getreideroste

IV. Anatomische Untersuchungen über den Infektionsverlauf bei mit Sulfonamid behandelten Getreidekeimpflanzen

Von

K. Hassebrauk

Frühere Untersuchungen, über die in dieser Zeitschrift berichtet ist (**19**, 1952, 56), hatten ergeben, daß Getreidekeimpflanzen durch Zuführung von angemessenen Mengen bestimmter Sulfonamidpräparate für eine gewisse Zeit gegen Rost immunisiert werden können. Mit Sulfonamid gedüngte, normalerweise hochanfällige Pflanzen zeigten nach der Beimpfung mit Uredosporenaufschwemmungen kongenialer Rostarten keine Fruktifikation des Pilzes. Einige Beobachtungen deuteten darauf hin, daß die Infektion als solche in diesen Fällen zum Haften gekommen sein mußte und daß lediglich die Fähigkeit zur Sporenbildung durch die Sulfonamidzufuhr vorübergehend unterbunden zu sein schien. So zeigten die beimpften Blätter vielfach mehr oder weniger ausgeprägte chlorotische Verfärbungen in der beimpften Zone. Insbesondere wurde diese Annahme aber erhärtet, als es gelang, den Wirkungsmechanismus der Sulfonamide aufzudecken. In Übereinstimmung mit entsprechenden Erfahrungen an anderen Objekten ließ sich nachweisen, daß die offenbar nur fungostatische Wirkung der Sulfonamide auf einer Blockierung oder Verdrängung der auch für Rostpilze lebensnotwendigen PAB (p-Aminobenzoesäure) beruhen mußte, da nachträgliche Versorgung der mit Sulfonamid behandelten Pflanzen mit annähernd äquivalenten Mengen PAB oder Folsäure die Entwicklungshemmung aufhob und normale starke Uredobildung auf den bis dahin scheinbar rostfreien Blättern zur Folge hatte.

Im Rahmen anderer Untersuchungen bot sich die Möglichkeit, die Vorgänge anatomisch zu verfolgen, wie sie sich bei Getreidekeimpflanzen abspielen, die durch Sulfonamid rostwiderstandsfähig bzw. durch spätere Ver-

abfolgung von PAB oder Folsäure wieder anfällig gemacht worden waren. Die Untersuchungen wurden mit *Puccinia triticina* sowie *P. coronata* und verschiedenen, für die verwendeten Rassen anfälligen Sorten durchgeführt. Da die Ergebnisse sich in allen Fällen grundsätzlich deckten, kann von einer Wiedergabe einzelner Versuchsreihen abgesehen werden. Bezüglich Einzelheiten der Versuchsdurchführung bei der Anzucht und Vorbehandlung der Pflanzen sei auf meine früheren Veröffentlichungen verwiesen.

Die Keimpflanzen wurden am Tage des Beimpfens mit einer erfahrungsgemäß wirksamen Menge des Sulfonamidpräparates „Ladogal" (C. F. Boehringer & Söhne) versorgt. Nach 24 Stunden und weiterhin in Intervallen von 24 Stunden wurden aus den Versuchsreihen Blätter abgeschnitten und anatomisch untersucht. Vergleichsweise wurden jeweils zur gleichen Zeit beimpfte Blätter von unbehandelten Töpfen wie Blätter von solchen Pflanzen geprüft, die 24 Stunden nach der Ladogalbehandlung und dem Beimpfen mit Rost für drei Nächte hintereinander mit den oberirdischen Teilen in annähernd äquivalente PAB- oder Folinsäurelösungen eingehängt worden waren.

Die anfänglichen Versuche, die Blätter im Gefriermikrotom zu schneiden, brachten keine befriedigenden Ergebnisse. Es wurde in der Folge ausschließlich mit Paraffineinbettung gearbeitet. Unter den zahlreichen geprüften Fixierungs- und Färbungsmethoden hat sich folgende Verfahrensweise am besten bewährt: Fixierung im Mannheimer Gemisch (gleich gut: Carnoy und Lavdowski), Einbetten nach Passage über Methylbenzoat-Alkohol, Färben der entparaffinierten Schnitte modifiziert nach Buxbaum (Mikrokosmos **40**, 1951, 173, 174, 176): Eisen-Hämatoxylin + 0,5 % Lichtgrün im Verhältnis 2 : 1 für 2 bis $2^1/_2$ Stunden. Statt Lichtgrün läßt sich mit Erfolg auch Alizarin verwenden. Überfärbungen lassen sich leicht mit HCl-Alkohol zurückdifferenzieren.

Von gelegentlichen, unabhängig von der Behandlungsart auftretenden Abweichungen abgesehen, wo der Infektionsvorgang mit der Ausbildung einer substomatären Blase zunächst abgeschlossen schien, zeigten die Blätter aus allen Versuchsreihen eine vom Tage des Beimpfens ab fortschreitende Entwicklung interzellulären Myzels. In den Blättern der nur mit Sulfonamid behandelten Pflanzen war also gleichfalls eine Weiterentwicklung des Rostmyzels festzustellen, wobei allerdings aus den Beobachtungen an Hunderten von untersuchten Einzelschnitten der Eindruck gewonnen wurde, daß die Entwicklung hier zögernder und unregelmäßiger vor sich ging als bei den Kontrollen bzw. den nachträglich mit PAB versorgten Pflanzen. Es war auffallend, daß die Schnitte der nur mit Ladogal behandelten Blätter beim Präparieren besonders stark zum Einrollen neigten. Entsprechend den makroskopischen Feststellungen ging das Myzel in den nur mit Sulfonamid behandelten Pflanzen nicht zur Uredobildung über, während bei den Kontrollen und den in PAB- oder Folsäurelösung eingehängten Blättern nach Ablauf der Fruktifikationszeit Uredopusteln in der bekannten Weise angelegt wurden.

Die Ergebnisse bestätigen überzeugend die schon früher aus den experimentellen Befunden hergeleitete Vermutung, daß auf den mit Sulfonamid

behandelten Pflanzen die Infektion mit Rost angeht, daß aber die Fruktifikation verhindert wird, solange ein Defizit an PAB oder Folsäure in der Wirtspflanze besteht. Wenn auch möglicherweise schon eine gewisse Schwächung der vegetativen Myzelentwicklung erfolgt, wirkt sich der Mangel an PAB doch offensichtlich erst bei der Fruktifikation aus. Es zeigt sich, daß die PAB für die Sporenbildung der Rostpilze eine ausschlaggebende Rolle spielt. Es ist in diesem Zusammenhang auf einige ähnliche in vitro an anderen Pilzen gewonnene Beobachtungen hinzuweisen, die von mir bereits früher diskutiert worden sind.

Für eine gegebenenfalls zu erwägende praktische Anwendung der Sulfonamidbehandlung, z. B. im Zierpflanzenbau, ergibt sich aus den anatomischen Untersuchungen die Erkenntnis, daß die rosthemmende Wirkung offenbar nicht so weitgehend ist, wie es dank des Fehlens der Sporenbildung den Anschein hat. Eine Propagation der Rostpilze wird allerdings bei dieser Behandlungsweise verhindert, zumindest so lange, bis der gestörte Stoffwechsel der Wirtspflanze wieder normalisiert ist. Diese Fragen werden in zur Zeit laufenden Untersuchungen zu klären sein.

Die Durchführung der Untersuchungen wurde durch die Bereitstellung von ERP-Mitteln ermöglicht.

Aus dem Phytopathologischen Institut der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Direktor: Prof. Dr. M. Klinkowski

Beiträge zur physiologischen Spezialisierung des Erregers des Kartoffelschorfes *Streptomyces scabies* (Thaxt.) Waksman and Henrici

Von
G. M. Hoffmann

Mit 21 Abbildungen

Inhalt: I. Einleitung — II. Untersuchungsmaterial — III. Isolierungsmethoden — IV. Analyse der isolierten Streptomyceten — V. Untersuchungen zur Frage der physiologischen Spezialisierung. A. Untersuchungen zur Morphologie von *Streptomyces scabies*; a) Vegetatives Mycel, b) Luftmycel, c) Wuchsformen. B. Untersuchungen zur Physiologie von *Streptomyces scabies*; a) Hydrolyse von Stärke, b) Bildung von Tyrosinase, c) Bildung proteolytischer Fermente, d) Wachstum auf Magermilch, Bromkresolmilch und Lackmusmilch, e) Indolbildung, f) Nitratreduktion, g) Variationen des Kulturcharakters, h) Verhalten gegenüber der Reaktion des Mediums. C. Untersuchungen zur Pathogenität von *Streptomyces scabies*; a) Infektionsversuche mit „L-Töpfen", b) Infektionsversuche mit verschiedenen *Streptomyces*-Arten, c) Infektionsversuche im Gewächshaus, d) Infektionsversuche mit kleinen „L-Töpfen", e) Infektionsversuche im Frühbeet, f) Infektionsversuche im Freiland — VI. Zusammenfassung — Literatur.

I. Einleitung

Die Erscheinung der physiologischen Spezialisierung ist bei phytopathogenen Organismen weit verbreitet und besonders in den letzten Jahrzehnten Gegenstand vieler Untersuchungen gewesen. Es handelt sich dabei um die Aufgliederung eines in seinen morphologischen Grundprinzipien einheitlichen Organismus in physiologisch unterschiedliche Rassen. Die zahlreichen Nachweise einer Spezialisierung könnten Veranlassung geben, von einem allgemeingültigen, nicht nur auf parasitische Mikroorganismen sich beschränkenden Zustand zu sprechen. Eine geringe allgemeine Kenntnis und Unzulänglichkeiten bei den bisherigen Untersuchungsmethoden sind vielleicht Gründe dafür, daß bei einigen phytopathogenen Organismen noch keine physiologische Spezialisierung gefunden werden konnte.

Der Erreger des Kartoffelschorfes, *Streptomyces scabies*, zählt im oben angeführten Sinn nicht zu den Ausnahmen. Der erste Nachweis physiologischer Rassen gelang jedoch spät, da die Klärung der Ätiologie der Krankheit erst vor etwa 30 Jahren möglich wurde und die allgemeine Kenntnis der

Actinomyceten, zu denen der Kartoffelschorferreger zu rechnen ist, lange Zeit ungenügend war.

In Anlehnung an neuere Erkenntnisse über die Strahlenpilze, die besonders mit der Entdeckung der Antibiotika und ihrer praktischen Anwendung gewonnen wurden, wurde das Problem des Erregers des Kartoffelschorfes unter deutschen Verhältnissen neu aufgegriffen, unter besonderer Berücksichtigung der Frage nach Art und Ausmaß seiner physiologischen Spezialisierung.

Nach Untersuchungen von WOLLENWEBER (67, 68) haben verschiedene Strahlenpilzarten als Erreger des Kartoffelschorfes zu gelten. Mit der Einteilung in bestimmte Arten ging gleichzeitig eine Differenzierung auf symptomatologischer Grundlage einher, indem der Pathogenität einer bestimmten Art die Erzeugung eines bestimmten Krankheitsbildes zugeschrieben wurde (Flach-, Tief-, Buckelschorf). Nach MILLARD und BURR (31) sollen ebenfalls eine Reihe von Arten an der Entstehung des Kartoffelschorfes beteiligt sein, jedoch blieben diese Befunde, wie auch die Untersuchungen von WOLLENWEBER, bisher unbestätigt.

Nach 1921 ist in Deutschland das Erregerproblem des Kartoffelschorfes nicht mehr eingehend bearbeitet worden. BERKNER (3), KIESSLING (21), WINGERBERG (66) und NOLL (33) beschäftigten sich lediglich damit, die Biologie des Kartoffelschorfes aufzuklären bzw. Bekämpfungsmaßnahmen oder Selektionsmöglichkeiten für die praktische Resistenzzüchtung zu erarbeiten. In gleicher Richtung liegen die langjährigen Feldprüfungen von SCHLUMBERGER (38—55).

In der neueren amerikanischen Literatur wird als Erreger des Kartoffelschorfes lediglich eine Art (*Streptomyces scabies*) angeführt, wobei besonders durch die Arbeiten von LEACH, DECKER und BECKER (28), SCHAAL (36, 37) und THOMAS (62) auf eine weitgehende Aufgliederung in physiologische Rassen hingewiesen wird. Ähnliche Ergebnisse liegen von DE BRUYN (6) aus Holland vor. Auch in der Tschechoslowakei konnte das Vorhandensein physiologischer Rassen von JERMOLJEV und SETHOFER (19) wahrscheinlich gemacht werden.

Nach SCHLUMBERGER (zitiert bei HEY) und HEY (11) ist, von der rein praktischen Seite betrachtet, das Erregerproblem des Kartoffelschorfes von untergeordneter Bedeutung. Ihrer Meinung nach ist der sortentypischen Empfänglichkeit bzw. Resistenz, die durch Feldversuche zu ermitteln ist, eine weit größere Bedeutung beizumessen. Der Wert derartiger Feldversuche soll nicht bestritten werden, jedoch stehen wir heute vor der Notwendigkeit, zur Beschleunigung des züchterischen Erfolges auch künstliche Infektionen heranzuziehen. Eine derartige Abwandlung des bisher üblichen Prüfungsverfahrens ist an eine Reihe von Voraussetzungen gebunden. Von entscheidender Bedeutung ist eine brauchbare, alle Eigenarten der Krankheit berücksichtigende Infektionsmethode. Darüber hinaus ist die Kenntnis ungeklärter Fragen der Biologie, der Artzugehörigkeit und der Variabilität der Erreger von besonderer Wichtigkeit.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es daher, die allgemeine Kenntnis über den Erreger des Kartoffelschorfes zu vertiefen, seine morphologischen und physiologischen Eigenschaften zu charakterisieren, Voraussetzungen für Resistenzprüfungen mit künstlichen Infektionen zu schaffen und insbesondere einen Beitrag zur Frage der physiologischen Spezialisierung zu liefern.

II. Untersuchungsmaterial

Untersuchungen zur Frage der Physiologie, insbesondere der physiologischen Spezialisierung eines phytopathogenen Organismus, machen es erforderlich, von einem möglichst großen und heterogen zusammengesetzten Erregermaterial auszugehen.

Aus den verschiedensten Gegenden Deutschlands erhielt ich durch Unterstützung der Pflanzenschutzämter der Länder, verschiedener Institute und Saatzuchtbetriebe schorfkranke Kartoffelknollen. Bei der Auswahl der Herkünfte wurde besonderes Augenmerk auf klimatische, edaphische, sortenmäßige und symptomatologische Unterschiede gerichtet. Es erreichten mich Proben aus maritimen Klimabezirken (Oldenburg, Mecklenburg) und aus Gegenden mit vorherrschend kontinentalem Klimacharakter (Sachsen, Lausitz, Ostbrandenburg). Auch in edaphischer Hinsicht konnten Proben der verschiedensten Art erhalten werden, so z. B. von Sandböden (Torgau, Petkus, Kalkreuth), Lehm- und Lößlehmböden (Bernburg, Magdeburg), anmoorigen Böden (Westhavelland) und Moorböden (Potsdam). Die Zahl der eingesandten Proben betrug 151 (Ernte 1950) bzw. 45 (Ernte 1951), insgesamt also 196. Sie verteilten sich auf 32 Sorten und 7 Zuchtstämme, wobei Ackersegen und Aquila mit zusammen 38 % beteiligt waren. Es folgen dann die Sorten Voran, Merkur, Capella und Böhms Mittelfrühe mit zusammen 31,2 %. Hinsichtlich des Schorftypes konnten alle bisher bekannten Erscheinungsformen beobachtet und in die Untersuchungen einbezogen werden, mit Ausnahme des von Frank und Krüger (9) und auch von Noll (33) beschriebenen Buckeltiefschorfes.

Bei den oben angeführten Sorten, die mit fast 70 % an den Proben beteiligt waren, zeigte sich ein auffallend unterschiedliches Verhältnis der beiden Typen Flach- und Tiefschorf.

Tabelle 1

Verteilung der Schorftypen Flachschorf und Tiefschorf bei sechs Kartoffelsorten

Sorte	Flachschorf in %	Tiefschorf in %
Ackersegen	70	30
Merkur	71	29
Voran	83	17
Mittelfrühe	90	10
Aquila	16	84
Capella	23	77

Aus Tabelle 1 ist zu entnehmen, daß sich die Sorten Ackersegen, Merkur, Voran und Böhms Mittelfrühe in dem Verhältnis, in dem Flach- und Tiefschorf gefunden wurden, nur unbedeutend unterschieden. Sie wiesen alle vorherrschend Flachschorf auf. Aquila und Capella scheinen hingegen in stärkerem Maße zu Tiefschorf zu neigen. Leider verfügen wir nicht über neuere Untersuchungen, die die Beziehungen zwischen Schorftyp und Resistenzverhalten der in Deutschland gegenwärtig zum Anbau zugelassenen Sorten zum Inhalt haben. Aus früheren Untersuchungen ist bekannt, daß dem Einfluß der Wirtspflanze auf den Schorftyp eine Bedeutung zukommt. HUMPHREY (17) und FRANK und KRÜGER (9) glaubten, daß keine ursächlichen Verschiedenheiten bestehen, sondern die Unterschiede im Schorftyp durch ein sortenspezifisches Reaktionsvermögen bedingt sind. SCHLUMBERGER (40), BERKNER (3) und NOLL (33) kommen zu der gleichen Auffassung. SCHLUMBERGER (40) führt den Buckelschorf als Charakteristikum für die Sorten Odenwälder Blaue, Hessenland und Wotan an, den Tiefschorf für Ambrosia, Erstling u. a.

Nach HEY (11) sind Aquila und Capella als sehr stark anfällig zu bezeichnen. Es ist möglich, daß zwischen Anfälligkeit und Schorftyp eine Beziehung besteht, wonach bei stark anfälligen Sorten in weit höherem Maße die schwere Befallsform des Tiefschorfes als bei weniger anfälligen Sorten auftritt.

Die Sorte Ackersegen wurde zu 30 % mit Tiefschorf behaftet eingesandt. Der Schorfbefall war teilweise so schwer, daß die Relativität der ihr auf Grund von Feldversuchen zugesprochenen Resistenz deutlich wurde.

Neben den schorfkranken Knollen wurde in vielen Fällen eine Bodenprobe vom Standort der erkrankten Staude eingesandt, die auf ihren pH-Wert untersucht wurde. Die Bestimmung der Werte erfolgte elektrometrisch in KCl. Der größte Teil der untersuchten Bodenproben war schwach sauer bis neutral. Eine Beziehung zwischen dem Schorftyp und der Bodenreaktion konnte nicht festgestellt werden. Flach- und Tiefschorf kamen in den einzelnen pH-Bereichen in annähernd gleichem Verhältnis vor.

III. Isolierungsmethoden

WOLLENWEBER (67) isolierte pathogene Streptomyceten, indem er nach gründlicher Reinigung der Knolle diese von der Gegenseite der Schorfpustel her anschnitt, durchbrach und aus der Grenzzone zwischen gesundem und krankem Gewebe kleine Teile auf sterile Kartoffelscheiben in Reagenzgläser brachte. WINGERBERG (66) ging prinzipiell den gleichen Weg und brachte die entnommenen Teile in ein Röhrchen mit verflüssigtem Haferagar, dessen Inhalt in eine sterile Petrischale ausgegossen wurde. Weitere Isolierungsmethoden wurden von SHAPOVALOV (56), TAYLOR (59), KENKNIGHT (20), DE BRUYN (6) und SCHAAL (37) beschrieben.

Für die vorliegenden Untersuchungen erwies sich die Methode von WOLLENWEBER (67) als wenig geeignet, da eine große Anzahl Fremdinfek-

tionen auftrat und außerdem bei einer Isolierung nur in Einzelfällen gleichzeitig mehrere *Streptomyces*-Arten gefunden wurden. Es wurde aber angestrebt, mit einer Isolierung eine möglichst große Zahl verschiedener Strahlenpilze zu erhalten, um gegebenenfalls gleichzeitig vorhandene Arten oder Rassen zu erfassen.

Für die Untersuchung der eingesandten Proben kam folgende, nach Schaal (37) modifizierte Isolierungsmethode zur Verwendung:

Die Knollen wurden in strömendem lauwarmem Wasser gründlich mit einer Handbürste gereinigt und danach in einem sterilisierten Raum (Abzug) getrocknet. Mit einem alkoholgetränkten Wattebausch wurde die zur Isolierung vorgesehene Schorfpustel mehrfach betupft und abgeflammt. Mit einem abgeflammten Skalpell wurden die kranken und abgestorbenen Teile entfernt und aus der Grenzschicht zwischen gesundem und krankem Gewebe einige Zellen abgeschabt und bei 30 bis 40 ° C in ein bereitgehaltenes, mit 15 ccm flüssigem Agar gefülltes Reagenzglas überführt. Nach gründlichem Umschütteln wurden sechs Ösen in ein zweites Reagenzglas gebracht. Der Inhalt beider Röhrchen wurde in sterile Petrischalen ausgegossen.

Als Nährboden kam folgender, nach Schaal modifizierter Kartoffelsaft-Dextrose-Agar zur Verwendung:

Der Saft von 300 g geschälten Kartoffeln wurde gekocht und filtriert, das Filtrat mit Wasser auf 1000 ccm aufgefüllt und 10 g Glukose und 20 g Agar zugesetzt.

Von jeder Knollenprobe wurden drei Isolierungen durchgeführt. Die Platten wurden bei 25 ° C bebrütet und nach drei bis fünf Tagen mikroskopisch untersucht.

In den meisten Fällen konnte wegen der großen Zahl der sich entwickelnden Strahlenpilze nur ein Teil abgeimpft und weiterkultiviert werden. Die Unterscheidung der Strahlenpilze von den Bakterien auf den Isolierungsplatten ist verhältnismäßig einfach, da die ersteren eine festere Konsistenz der Kolonienoberfläche haben, ferner vielfach in den Agar etwas eingesunken sind. Im mikroskopischen Bild wird an den Kolonienrändern die Ausbildung eines echten Mycels sichtbar. Von den gewöhnlichen Bodenpilzen sind die Strahlenpilze durch die Größe des Mycels zu trennen.

Die Zahl der sich auf den Platten entwickelnden Streptomyceten war sehr unterschiedlich. Sie schwankte zwischen 0 und mehreren Hundert. In einem Falle konnten 432 Strahlenpilzkolonien auf einer Platte gefunden werden.

Die günstigsten Isolierungsergebnisse wurden von Tiefschorf erhalten, besonders dann, wenn sich am Grunde des erkrankten Gewebes eine rotviolette Färbung zeigte.

Mit der genannten Methode wurden im Winter 1950/51 über 500 Strahlenpilze isoliert und von diesen 243 Kulturen angelegt, die als Ausgangsmaterial für die eigentlichen Untersuchungen dienten. Der größte Teil von ihnen gehörte zur Gattung *Streptomyces*, Vertreter der Gattung *Nocardia* wurden von weiteren Untersuchungen ausgeschlossen.

IV. Analyse der isolierten Streptomyceten

Es war zu erwarten, daß bei der großen Verbreitung der Strahlenpilze im Boden mit der angeführten Isolierungsmethode eine größere Anzahl verschiedener Arten der Gattung *Streptomyces* erfaßt werden würden. Diese Tatsache gibt auch WAKSMAN (65) Veranlassung zu berechtigten Zweifeln an einer Anzahl von Arten, die von verschiedenen Autoren als Erreger des Kartoffelschorfes beschrieben worden sind. Es war daher notwendig, bei dem vorliegenden Ausgangsmaterial mit Hilfe besonderer Methoden die Art *Streptomyces scabies* von Vertretern anderer Arten zu trennen. Eine Differenzierung nach morphologischen Gesichtspunkten ist bei Strahlenpilzen verhältnismäßig schwierig, da diesbezügliche Unterschiede nur gering oder überhaupt nicht vorhanden sind. Eine Selektion bestimmter Formen wird daher erst dann möglich, wenn es gelungen ist, artspezifische, physiologische Eigenschaften zu finden, die dafür als Grundlage dienen können.

TAYLOR und DECKER (60) konnten feststellen, daß die Säurefestigkeit in keiner Beziehung zur Pathogenität steht, daß aber alle auf Kartoffeln virulenten Streptomyceten einen dunkelbraunen Oberflächenring auf Magermilch bilden. Von 143 untersuchten Isolierungen zeigten 66 die typische Reaktion auf Magermilch und waren alle nach den Ergebnissen der Infektionsversuche auf der Kartoffel pathogen. Nach TAYLOR und DECKER (60) besteht eine direkte Korrelation zwischen den genannten Eigenschaften.

HOOKER (14) fand, daß *Streptomyces scabies* in Bodenextraktagar schwere Nekrosen besonders an den Wurzelspitzen von Sojabohnen, Erbsen, Weizen, Radieschen und roten Rüben verursachte und die Entwicklung der Seitenwurzeln hemmte. Alle sich in dieser Weise pathogen zeigenden Herkünfte vermochten gleichfalls die Kartoffel anzugreifen und die typischen Symptome des Schorfes auszulösen.

Die Größe meines Ausgangsmaterials gestattete es nicht, die Virulenz aller von mir isolierten Streptomyceten auf Kartoffeln zu prüfen. Es wurden daher die von TAYLOR und DECKER (60) und HOOKER (14) gefundenen charakteristischen Merkmale für die Analyse des Materials herangezogen.

A. Wachstum auf Magermilch

Zur Auslese verschiedener geographischer Herkünfte von *Streptomyces scabies* und zur Ermittlung ihres Anteils an der Gesamtzahl meiner Isolierungen wurden entsprechend den Angaben von TAYLOR und DECKER (60) 214 Streptomyceten auf Magermilch kultiviert.

Versuchsmethodik:

Zubereitung der Milch: Frische Magermilch wurde in noch erhitztem Zustand aus einer Molkerei bezogen und einer gemischten Sterilisation unterzogen. Sie wurde in einer Glasstöpselflasche mit 3 % reinem, säurefreiem Chloroform versetzt und unter öfterem Schütteln bei + 2 ° C zwei Tage

stehengelassen. Anschließend wurde die Milch zu je 10 ccm in Reagenzgläser abgefüllt und das Chloroform im Wasserbad durch vorsichtiges Erhitzen abgedampft. Nach dem Erreichen von 100 ° C wurde noch zehn Minuten weiter erhitzt, der Rand des Glases sorgfältig abgewischt und dieses mit einem Wattestopfen verschlossen. Der Nährboden wurde dann fraktioniert sterilisiert. Die Infektion des Mediums erfolgte durch Zugabe einer Öse einer starken Sporensuspension. Die Bruttemperatur betrug 25 ° C.

Die Veränderungen des Mediums durch die Strahlenpilze waren, wie bei der heterogenen Zusammensetzung des verwendeten Infektionsmaterials nicht anders zu erwarten war, sehr unterschiedlich. Teilweise erfolgte bereits nach wenigen Tagen eine deutliche Peptisierung, die innerhalb kurzer Zeit zu einer restlosen Klärung der Milch führte. Einzelne Isolierungen bildeten dabei blaue, rote, gelbe oder rotbraune Farbstoffe aus. Andere veränderten trotz guten Wachstums die Milch nicht sichtbar. Vertreter einer dritten Gruppe riefen eine mittel- bis dunkelbraune Verfärbung der Milch bei spät einsetzender, nur geringfügiger Peptisierung hervor und bildeten ein braunes, meist ringartig an der Wand des Glases wachsendes Mycel.

Auf Grund dieser Veränderungen der Milch wurde eine Einteilung der Isolierungen in folgende Gruppen vorgenommen:

I. Milch unverändert;

II. Milch koaguliert;

III. Milch peptisiert, teilweise unter blauer, roter, gelber oder rotbrauner Pigmentbildung;

IV. Milch mittel- bis dunkelbraun verfärbt, langsam peptisiert. Bildung eines braunen, meist ringartigen Oberflächenmycels.

Tabelle 2

Veränderung von Magermilch durch Streptomyceten nach 18tägiger Kulturzeit

Zahl der Isolierungen	Zahl der Organismen in den Gruppen			
	I	II	III	IV
214	6	0	100	108

Die Tabelle 2 gibt ein Bild über die Verteilung der untersuchten Formen auf die einzelnen Gruppen. Unter der Annahme, daß die von Taylor und Decker (60) aufgefundene Korrelation zu Recht besteht, lagen unter den geprüften Formen zu 50 % Erreger des Kartoffelschorfes vor. Eine weitere Differenzierung der Formen, die der Gruppe I und III angehörten, wurde nicht durchgeführt.

B. Pathogenitätsprüfungen auf Sojabohnen

Für diese Untersuchungen kam eine modifizierte Methode von HOOKER (14) zur Anwendung.

Versuchsmethodik:

1 kg Gartenerde wurde mit 1 l Wasser eine Stunde in strömendem Dampf sterilisiert und durch ein doppeltes Faltenfilter filtriert. Das Filtrat wurde mit Wasser auf 1000 ccm aufgefüllt, mit 13 g Agar versetzt und nach erfolgter Auflösung zu je 50 ccm in 200-ccm-Kolben gefüllt und bei 120 ° C 20 Minuten sterilisiert. In den noch flüssigen Agar wurden 2 bis 3 ccm einer Sporensuspension gegeben, anschließend gut geschüttelt und bei 25 ° C etwa sechs Tage bebrütet.

Die Sojabohnen wurden in strömendem Leitungswasser gut gewaschen, auf Filtrierpapier kurz getrocknet, 15 Minuten in eine 0,1 %ige Sublimatlösung gebracht, in sterilem Wasser mehrfach gewaschen und in sterile Petrischalen überführt. Nachdem die Keimwurzeln etwa 5 bis 10 mm lang waren, wurden die gekeimten Sojabohnen auf den beimpften Bodenextraktagar gebracht und die Wurzeln leicht eingedrückt. Die Aufstellung der Kölbchen erfolgte bei Zimmertemperatur (18 ° C) unter ständiger Beleuchtung. Nach Bedarf wurde mit sterilem Wasser gegossen.

Mit dieser Methode wurden in vier aufeinanderfolgenden Versuchsreihen 42 Isolierungen in dreifacher Wiederholung geprüft, die nach dem Milchtest der Gruppe IV angehörten und damit nach TAYLOR und DECKER (60) zu den pathogenen Formen zu rechnen waren. Die einzelnen Isolierungen verhielten sich in ihrer Pathogenität unterschiedlich. In schweren Fällen wurde eine Weiterentwicklung der Sojabohne vollständig gehemmt. Die Keimwurzeln und Kotyledonen verdickten sich merklich, ohne daß die Ausbildung anderer Organe erfolgte. Die Abb. 1 zeigt die Wirkung zweier stark aggressiver Herkünfte von *Streptomyces scabies* im Vergleich zu *Streptomyces griseus* und der unbeimpften Kontrolle. Auf den Keimblättern ließ sich vielfach typisches Luftmycel erkennen. Bei weniger starkem Befall kam es besonders zu Hemmungen an den lateralen Abzweigungen der Hauptwurzel. Die Wurzelspitzen waren entweder verdickt und verbräunt oder die Seitenwurzeln an

Abb. 1. Die Wirkung von *Streptomyces scabies* (Stamm 159 und 182) auf Sojabohnen im Vergleich zu *Streptomyces griseus* und der Kontrolle (Erdagarkultur)

ihren Austrittsstellen bereits zerstört und nur noch als braune Punkte kenntlich. Die Abb. 2 zeigt eine solche Pflanze, die neben dem stark angegriffenen Wurzelsystem auch Schädigungen am Hypokotyl und den Kotyledonen aufweist. Bei Streptomyceten, die nach dem Milchtest nicht als Schorferreger anzusprechen waren, wurden keinerlei Hemmungen beobachtet. Aus Tabelle 3 wird ersichtlich, daß in 40 von 43 Fällen die Pathogenität der zur Gruppe IV gehörenden Isolierungen nachgewiesen werden konnte.

Abb. 2. Durch Infektion mit *Streptomyces scabies* (Stamm 20) bedingte Schäden an Kotyledonen und Wurzeln der Sojabohne (vergrößert)

Tabelle 3

Ergebnisse der Pathogenitätsprüfungen von 43 Isolierungen von *Streptomyces scabies* in Bodenextraktagar

Nr. der Isolierung	Pathogenität	Nr. der Isolierung	Pathogenität
8	+++	94	++
14	+++	95	++
16	++++	97	++
18	+	104	−
20	+++	114	++++
30	+++	119	++
31	+++	121	−
35	++	124	++++
39	++	134	++++
40	+	139	−
44	++++	150	+++
51	++++	151	++
54	++	152	++++
56	++++	159	++++
58	+++	161	++++
64	+	171	+++
74	++++	182	++++
75	++++	207	++
79	+	211	+++
85	++	213	++++
88	++	236	++++
90	++		

Zeichenerklärung: ++++ sehr stark +++ stark ++ mittel + schwach − apathogen

Nach diesen Ergebnissen bin ich der Ansicht, daß der Milch- und Sojabohnentest als brauchbare Selektionsmethoden angesehen werden können, mit denen es gelingt, aus einer größeren Anzahl von Isolierungen die Herkünfte von *Streptomyces scabies* zu bestimmen. Über die Pathogenitätsprüfungen an Kartoffeln wird in späterem Zusammenhang berichtet werden.

V. Untersuchungen zur Frage der physiologischen Spezialisierung von *Streptomyces scabies*

A. Untersuchungen zur Morphologie von *Streptomyces scabies*

Der Erreger des Kartoffelschorfes gehört zur Gattung *Streptomyces* (WAKSMAN and HENRICI), auf deren morphologische und systematische Merkmale einleitend näher eingegangen werden soll.

Nach WAKSMAN und HENRICI (65) gliedern sich die *Actinomycetales* in die *Actinomycetaceae* und die *Streptomycetaceae*. Zu den *Actinomycetaceae* werden solche Formen gestellt, deren vegetatives Mycel in bazillen- oder kokkenähnliche Elemente zerfällt. Die zu dieser Familie gehörenden Gattungen sind *Actinomyces* (Harz) und *Nocardia* (Trevisan). Die Familie der *Streptomycetaceae* enthält ebenfalls zwei Gattungen, *Streptomyces* (Waksman und Henrici) und *Micromonospora* (Orskov). Eine der typischen Eigenschaften dieser Familie ist, daß das vegetative Mycel nicht in kurze Bruchstücke zerfällt. Die Vermehrung erfolgt bei der Gattung *Streptomyces* durch kettenförmig gebildete Konidien eines Luftmycels. Die Arten der Gattung *Micromonospora* bilden terminal an kurzen Sporenträgern einzelne Sporen.

Untersuchungen über die Morphologie des Erregers des Kartoffelschorfes, *Streptomyces scabies*, liegen so gut wie nicht vor. WOLLENWEBER (67), der *Streptomyces scabies* in Deutschland nicht fand, bringt eine kurze Beschreibung einer aus Amerika stammenden Isolierung. Danach bildet der Pilz ein grauweißes Luftmycel auf gelbbraunem Stroma. Auf sterilen Kartoffelstückchen wurde eine schwarze Substratfärbung beobachtet. Die Konidien hatten eine durchschnittliche Größe von 1,2 × 0,75 μ. WINGERBERG (66) beschreibt verschiedene morphologische Merkmale von 41 Streptomyceten. Da er nur Stamm I, den er aus dem Centraalbureau voor Schimmelcultures in Baarn erhalten hatte, zur Infektion benutzte, ist nicht zu entscheiden, ob es sich bei den übrigen Strahlenpilzen um Vertreter von *Streptomyces scabies* handelte. Aus den Angaben von NOLL (33) geht nicht mit Sicherheit hervor, ob er mit *Streptomyces scabies* gearbeitet hat, da nur wenige morphologische Angaben gemacht werden und die physiologischen Eigenschaften, soweit sie untersucht wurden, in keiner Weise als typisch für *Streptomyces scabies* angesehen werden können.

Aus der kurzgefaßten Literaturübersicht wird ersichtlich, daß *Streptomyces scabies* in Deutschland mit Sicherheit von keinem der Autoren gefunden wurde, vielmehr werden von WOLLENWEBER (67) eine Reihe anderer Arten für den Kartoffelschorf verantwortlich gemacht. Auch NOLL (33) hat eine

Reihe von Actinomyceten und Bakterien in Betracht gezogen, ohne allerdings ihre Pathogenität nachgewiesen zu haben.

Aus den Ergebnissen des Milch- und Sojabohnentestes sowie auf Grund von Beobachtungen über Kolonienfarbe, Luftmycelbildung und -färbung, Konidiengröße und Spiralbildung, die anschließend näher erläutert werden, wurde ersichtlich, daß zwischen dem Erreger des Kartoffelschorfes in Amerika und den in Deutschland gefundenen keine so weitgehenden Unterschiede bestehen, daß die Annahme einer oder mehrerer anderer Arten gerechtfertigt erscheint. Es kann mit einem hohen Grad von Wahrscheinlichkeit gesagt werden, daß die von mir isolierten und als pathogen erwiesenen Formen als Vertreter von *Streptomyces scabies* anzusehen sind. Die diesbezüglichen Beobachtungen an einem größeren Isolierungsmaterial decken sich weitgehend mit den Angaben von Schaal (37) und Waksman (65).

Nach Klärung der Frage der Artzugehörigkeit eines Teiles der Isolierungen wurden Untersuchungen zur Morphologie verschiedener Herkünfte von *Streptomyces scabies* durchgeführt. Es sollte dabei in erster Linie der Frage nachgegangen werden, ob es möglich ist, auf Grund morphologischer Vergleiche Verschiedenheiten unter den einzelnen Herkünften zu finden, die das Vorhandensein von physiologischen Rassen andeuten könnten. Nach Angaben von Leach, Decker und Becker (29) und Schaal (37) war es nicht möglich, eindeutige morphologische Unterschiede bei den einzelnen physiologischen Rassen zu finden. Die Rassen konnten von beiden Autoren nur auf Grund ihrer Virulenz und anderer physiologischer Eigenschaften unterschieden werden.

Trotzdem wurden eingehende morphologische Studien verschiedener Herkünfte durchgeführt, um auch diese Möglichkeit eventuell für die allgemeine Betrachtung des Problems heranziehen zu können.

a) Vegetatives Mycel

Streptomyces scabies bildet ein feines, sehr reich verzweigtes vegetatives Mycel mit monopodialer Verzweigung. Dieses ist in gewöhnlichem Zustand hyalin und unseptiert. Ein Zerfall in einzelne Segmente konnte auch bei älteren Kulturen nicht festgestellt werden. Aus solchem Mycel zusammengesetzte Kolonien besitzen meist eine feste, lederartige Konsistenz, sind im Nährboden etwas eingesunken und mit diesem fest verbunden. Am Rande findet man bei jungen, wachsenden Kolonien einen strahligen Kranz feiner, mehr oder weniger unregelmäßig durcheinanderwachsender Hyphen.

Nach Lieske (29) beträgt der Durchmesser des vegetativen Mycels bei Strahlenpilzen 0,5 bis 0,8 μ. In extremen Fällen umfaßt die Variationsbreite einen Bereich von 0,3 bis 1,2 μ. Waksman (65) gibt als Variationsbreite des Myceldurchmessers 0,2 bis 0,8 μ an. Im allgemeinen soll der Durchmesser des vegetativen Mycels bei dem gleichen Strahlenpilz relativ konstant sein. Ferner sollen keine Unterschiede zwischen Mycelien verschiedenen Alters vorhanden sein.

Über das vegetative Mycel von *Streptomyces scabies* konnte in der Literatur keine Größenangabe gefunden werden. Bei den eigenen Messungen wurden neun verschiedene Herkünfte untersucht. Es handelte sich um Subkulturen von Einzelsporisolierungen, die durch Herstellung mehrfacher Verdünnungsreihen oder mit Hilfe des Mikromanipulators gewonnen worden waren. Die Untersuchungen an unter gleichmäßigen Bedingungen herangezogenem, fixiertem und mit Karbolfuchsin gefärbtem Material ergaben, daß der durchschnittliche Myceldurchmesser 0,7 μ beträgt. Die mittleren Fehler waren sehr gering, so daß die geringe Variationsbreite dieses Merkmales bestätigt werden konnte. Zwischen den einzelnen Herkünften von *Streptomyces scabies* ließen sich keine Unterschiede feststellen.

In weiteren Untersuchungen wurde geprüft, ob die Anordnung des vegetativen Mycels am Rande der Kolonien Unterschiede einzelner Herkünfte erkennen läßt. Nach mikroskopischer Beobachtung einer größeren Anzahl von Einzelkolonien konnten keine Abweichungen beobachtet werden. In jedem Falle war bei jungen, stark wachsenden Kolonien am Rande ein langes, strahlig angeordnetes Mycel mit rechtwinkliger Verzweigung zu beobachten. Bei Kolonien, die ihr Wachstum eingestellt hatten, war der Kolonienrand in der Regel glatt.

Die Farbe des vegetativen Mycels wird von einzelnen Autoren sehr verschieden angegeben. Der von WOLLENWEBER (67) untersuchte Stamm bildete ein gelbes und ein braunes Mycel. WINGERBERG (66) spricht von dunklen (?) Hyphen auf Haferagar, und NOLL (33) beschreibt eine gelblichbraune Kolonienfarbe auf Kartoffelstückchen. Untersuchungen von SCHAAL (37) an 33 verschiedenen Isolierungen haben gezeigt, daß die Farbe des Substratmycels bei den einzelnen Herkünften sehr verschieden sein kann. Insgesamt zeigten auf Kartoffeldextroseagar 25 Formen graues Mycel, der Rest verteilte sich auf folgende Farben: Grün, Blau, Rot, Weiß und rötlich Gelb.

Um die Farbvariabilität des vegetativen Mycels der in Deutschland gefundenen Schorferreger festzustellen, wurde folgender Versuch gemacht: Auf zwei in der Stickstoffquelle unterschiedlichen Medien wurden 32 verschiedene, unter gleichen Bedingungen angezogene Herkünfte kultiviert und in gewissen Abständen die Farbe des Substratmycels, des Luftmycels und des Substrates bestimmt.

Zusammensetzung des Nährbodens:

$NaNO_3$	2	g	bzw. Pepton (WITTE) 2,08 g
K_2HPO_4	1	g	
$MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$	0,5	g	
KCl	0,5	g	
$FeSO_4$	0,01	g	
Glukose	30	g	
Agar	20	g	
Aqua dest.	1000	ccm	
pH	6,8		

Tabelle 4

Farbe des Substrat- und Luftmycels sowie Pigmentierung des Mediums bei 30 Herkünften von *Streptomyces scabies* und zwei *Streptomyces sp.* auf Peptonagar

Nr. der Isolierung	Substratmycel nach 16 Tagen	Luftmycel	Pigmentierung des Substrates
		nach 21 Tagen	
E_3 14	dunkelgrau	—	braun
E_1 16	„	dunkelgrau	„
E_2 18	hellgrau	„	„
E_2 20	„	hellgrau	„
E_4 23	gelbgrau	„	„
E_3 24	dunkelgrau	„	„
E_3 35	hellgrau	dunkelgrau	„
E_2 39	„	„	„
E_4 44	„	hellgrau	„
E_4 56	„	dunkelgrau	„
E_3 75	dunkelgrau	„	„
E_1 80	hellgrau	„	„
E_1 90	„	hellgrau	„
E_2 94	„	„	„
E_1 109	gelbgrau	gelbgrau	„
E_1 120	„	dunkelgrau	„
E_3 121	braungrau	„	„
E_2 122	hellgrau	„	„
E_3 124	„	„	„
E_1 130	„	hellgrau	„
E_4 134	„	dunkelgrau	„
E_2 145	„	hellgrau	„
E_1 150	gelbgrau	„	„
E_3 159	dunkelgrau	dunkelgrau	„
E_3 161	gelbgrau	„	„
E_3 171	hellgrau	„	„
E_5 182	gelbgrau	„	„
E_4 211	hellgrau	hellgrau	„
E_2 236	„	dunkelgrau	„
284[1])	gelbbraun	—	gelb
317[1])	braungrau	dunkelgrau	„
E_2 137	hellbraun	hellgrau	braun

[1]) Kein Erreger des Kartoffelschorfes.

Die Bruttemperatur betrug 25 ° C. Die Ergebnisse in Tabelle 4 zeigen, daß bei den von mir untersuchten Formen unter den angeführten Bedingungen keine so starke Variabilität nachzuweisen war, wie sie Schaal (37) gefunden hat. Unter der großen Zahl der isolierten Streptomyceten befanden sich aber solche, die die von Schaal angeführten Merkmale (blaues, rotes, grünes vegetatives Mycel) besaßen. Sie konnten aber alle nicht zu *Streptomyces*

scabies gestellt werden, da sie sich als nichtpathogen erwiesen und andere morphologische und physiologische Eigenschaften zeigten.

b) Luftmycel

Die Gattung *Streptomyces* ist durch die Bildung von Luftmycel ausgezeichnet, welches sich über dem vegetativen Mycel erhebt. Die Entstehung des Luftmycels ist wesentlich abhängig von der Art bzw. Herkunft des Organismus, der Zusamensetzung des Mediums und den sonstigen Kulturbedingungen. Unter den Streptomyceten gibt es Arten, die ein kurzes, gerades Luftmycel besitzen, ferner solche mit stark gewelltem oder verzweigtem Luftmycel. Manche Formen erzeugen lange, unverzweigte Hyphen, die gerade oder leicht gekrümmt sind. Das Luftmycel kann die ganze Kolonie in Form von wolligen Massen oder als kreideähnlicher Belag bedecken. Mitunter beobachtet man das Auftreten von konzentrischen Ringen. Von LIESKE (29) und KRASSILNIKOW (25) wurde in seltenen Fällen eine Art Koremienbildung festgestellt, die auch ich unter bestimmten Bedingungen beobachten konnte.

Abb. 3. Luftmycel von *Streptomyces scabies* (Vergr. 216fach)

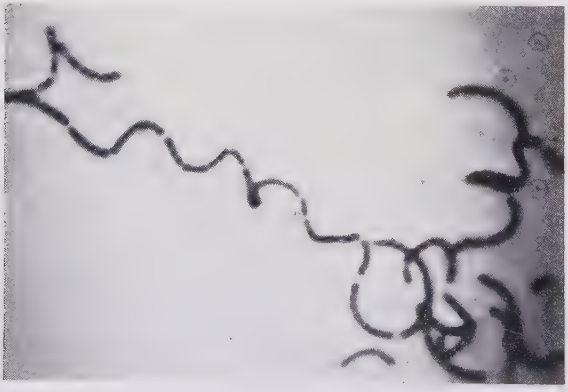


Abb. 4. Spirale im Luftmycel von *Streptomyces scabies* (Vergr. 1600fach, Carbolfuchsinfärbung)

Streptomyces scabies besitzt ein wolliges, leicht gekrümmtes Luftmycel mit langen, verzweigten Hyphen. Dieses geht später zur Bildung von Konidien oder Fragmentationssporen über, wobei die Nebenäste der axialen Hyphen zur Spiralbildung neigen. Die Abb. 3 und 4 zeigen die typische Art der Luftmycelbildung, wie ich sie bei meinen Isolierungen immer wieder gefunden habe. Irgendwelche Besonderheiten oder Unregelmäßigkeiten in bezug auf die Luftmycelbildung und -anordnung konnten bei den zahlreichen untersuchten Herkünften nicht gefunden werden.

Nach Waksman (65) beträgt die durchschnittliche Breite der Lufthyphen 1 bis 1,4 μ, das bedeutet, daß es etwas größer als das vegetative Mycel ist. In eigenen Messungen an mehreren Herkünften konnte diese Tatsache bestätigt werden. Die Hyphenbreite betrug 0,9 bis 1,0 μ. Der Schwankungsbereich innerhalb der Art war sehr gering, so daß auch in diesem Merkmal kein Kriterium für die Existenz verschiedener Rassen gefunden werden konnte.

Die im Luftmycel endogen entstehenden Konidien können bei den einzelnen Arten der Gattung *Streptomyces* von sehr unterschiedlicher Gestalt sein. Für *Streptomyces scabies* wird von allen Autoren eine zylindrische Form angegeben (33, 37, 67). Die Sporengröße beträgt nach Wollenweber (67) 1,2 × 0,75 μ. Der von Noll (33) benutzte Stamm hatte eine Konidiengröße von 1,8 × 0,8 μ und Waksman (65) gibt 0,8 bis 1,0 × 1,2 bis 1,5 μ an.

Tabelle 5

Durchschnittliche Größe des Luftmycels und der Luftsporen von *Streptomyces scabies* auf Glukose-Nitratagar (Karbolfuchsinfärbung nach Hitzefixierung)

Nr. der Isolierung	Luftmycel in $^1/_{10}$ μ	Sporengröße in $^1/_{10}$ μ
E_2 20	10,37 ± 0,05	10,89 × 9,25 ± 0,02 × 0,03
E_4 44	9,47 ± 0,08	11,0 × 8,8 ± 0,01 × 0,01
E_3 94	10,16 ± 0,06	10,81 × 9,05 ± 0,04 × 0,05
E_1 150	9,76 ± 0,05	10,58 × 8,93 ± 0,03 × 0,03
E_3 159	9,90 ± 0,05	10,91 × 9,42 ± 0,02 × 0,05
E_3 161	9,46 ± 0,06	11,03 × 8,99 ± 0,01 × 0,04
E_3 171	9,22 ± 0,06	11,06 × 9,03 ± 0,02 × 0,06
E_5 182	9,37 ± 0,04	11,13 × 8,78 ± 0,05 × 0,06
E_4 207	9,02 ± 0,07	11,24 × 9,62 ± 0,07 × 0,04
E_4 *Streptomyces griseus*		10,78 × 9,36 ± 0,06 × 0,04

Die von mir gefundenen Werte sind der Tabelle 5 zu entnehmen. Es konnten nur zylindrische Sporentypen gefunden werden, wobei die einzelnen Herkünfte keine so großen Unterschiede zeigten, daß man auf verschiedene Rassen, viel weniger noch auf verschiedene Arten schließen könnte, obwohl in diese Untersuchungen Formen einbezogen wurden, die deutliche Unterschiede in ihrem Kulturcharakter bewiesen hatten.

Die vorstehenden Ergebnisse wurden an hitzefixiertem Material gewonnen. Es kann daher der Einwand erhoben werden, daß diese Art der Behandlung eventuelle Unterschiede ausgeglichen hat, da es unter der Hitzeeinwirkung zu einer starken Koagulation des Eiweißes kommt. Es wurden daher zu einem späteren Zeitpunkt die Messungen wiederholt, wobei auch andere Lichtquellen und Farbstoffe Verwendung fanden. Bei den folgenden Untersuchungen wurden Vitalfärbungen mit Acridinorange (Konzentration 1 : 100 000) durchgeführt. Als Lichtquelle diente eine Luminiszenzeinrichtung

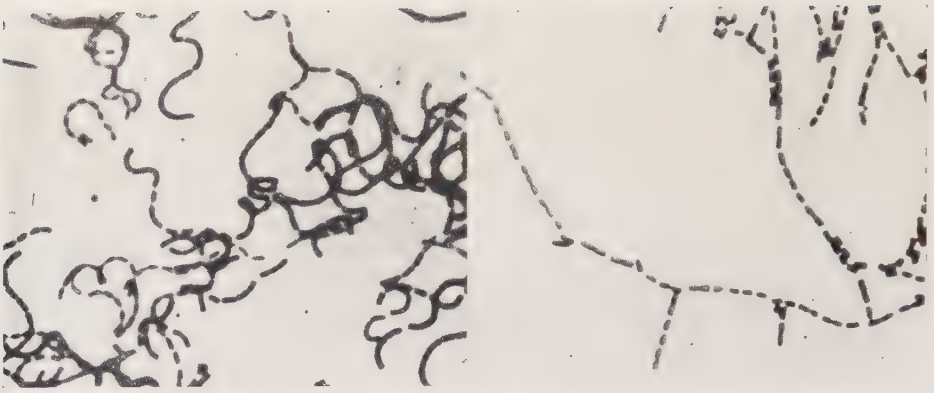


Abb. 5. Luftmycel von a) *Streptomyces scabies* und b) *Streptomyces* sp., Carbolfuchsinfärbung (Vergr. 1200fach)

unter Vorschaltung eines Blaufilters (BG 1) der Firma Schott, Jena. Bei Anwendung der Karbolfuchsinfärbung schienen die Luftporen fast uniform zu sein, auf alle Fälle wurde eine große Regelmäßigkeit hinsichtlich ihrer Form und Größe vorgetäuscht. Der gleiche Eindruck erwächst aus der Abb. 5, die zwei Karbolfuchsinpräparate darstellt. In Wirklichkeit besteht aber eine große Variabilität. Betrachtet man die Zahlenwerte, die sich bei fixiertem und vital gefärbtem Material ergeben haben (Tabelle 5 und 6), so weisen die Vitalmessungen fast immer größere Längenwerte auf. Ferner sind die mittleren Fehler der Mittelwerte in jedem Falle fast um das Zehnfache größer. Das bedeutet, daß mit Hilfe der Vitalmessungen eine viel größere Variationsbreite erfaßt werden konnte als bei fixiertem Material.

Tabelle 6

Durchschnittliche Sporenlänge und Sporenbreite bei Vitalfärbung im UV-Licht

Nr. der Isolierung	Sporenlänge in $^1/_{10}$ μ	Sporenbreite in $^1/_{10}$ μ
E_4 23	12,9 ± 0,2	8,99 ± 0,07
E_4 44	11,9 ± 0,1	8,86 ± 0,08
E_1 90	11,5 ± 0,1	8,97 ± 0,06
E_3 124	12,6 ± 0,2	9,04 ± 0,07
E_1 127	12,2 ± 0,1	8,91 ± 0,02
E_1 130	13,5 ± 0,2	9,30 ± 0,04
E_3 159	13,1 ± 0,1	9,10 ± 0,07
E_4 211	11,4 ± 0,6	9,05 ± 0,05

Die Länge der Konidien schwankte beträchtlich. Es konnten bei fast allen untersuchten Herkünften Längenwerte von 0,8 bis 2 Teilstrichen festgestellt werden. Es ist ferner bemerkenswert, daß Größenunterschiede inner-

halb einer Sporenkette ebensooft auftreten können wie zwischen benachbarten Ketten. Neben sehr unregelmäßigen Ketten findet man solche, deren Sporen mit fast mathematischer Genauigkeit angeordnet sind. In einer größeren Kette wurden fortlaufend Sporen folgender Länge gemessen: 10, 10, 10, 11, 11, 11, 11, 12, 10, 10, 10, 11, 10, 10, 10, 10, 10, 10, 11, 11, 10 (Angaben in $^1/_{10}$ Teilstrich, ein Teilstrich = 1,1 μ). Daneben wurde im gleichen Präparat eine unregelmäßige Kette gemessen, die fortlaufend folgende Werte ergab: 15, 12, 10, 12, 10, 12, 8, 15, 10, 12, 12, 12, 10, 15, 9, 12, 11, 10, 16, 10, 10, 20, 20, 12, 10, 10.

Man kann vermuten, daß sich die unregelmäßigen Ketten auf Grund ungünstiger äußerer Bedingungen gebildet haben. Nach mündlicher Mitteilung von Herrn Prof. Dr. LINDENBEIN, Göttingen, kommt den Großsporen vielleicht eine besondere Rolle im Lebenszyklus der Strahlenpilze zu.

Das Luftmycel von *Streptomyces scabies* ist reichlich verzweigt. Infolge der starken Verästelung, die vor der Sporulation auftritt, beobachtet man später an Verzweigungsstellen besonders geformte Sporen. Im kurzwelligen Licht konnten mehrfach die in Abb. 6 dargestellten Erscheinungen gefunden werden. In manchen Sporenketten beobachtet man mitunter das plötzliche Fehlen einzelner Konidien. Entweder hat sich das Plasma an diesen Stellen verlagert oder diese Teile sind während oder kurz vor der Sporulation abgestorben. Bei allen untersuchten Formen, die als Erreger des Kartoffelschorfes identifiziert werden konnten, wurden spiralige Sporenketten gefunden. Die Spiralbildung erfolgt erst während der Sporulation. Nach WAKSMAN (65), im Gegensatz zu DRECHSLER (7), besitzt die Drehrichtung der Luftmycelspiralen keinen taxonomischen Wert, da links- und rechtsdrehende Spiralen in der gleichen Kultur nachgewiesen wurden. Bei den von mir untersuchten Formen wurde überwiegend rechtsdrehendes Mycel gefunden.

Abb. 6. Luftmycel von *Streptomyces scabies*, nach Beobachtung im UV-Licht, Vitalfärbung mit Acridinorange 1 : 10 000 (Vergr. etwa 1200fach)

In Sporengröße, -form und -anordnung konnten keine so großen Unterschiede ermittelt werden, die eine Einteilung in verschiedene Arten rechtfertigen würden. Auch von morphologisch unterscheidbaren Rassen kann nicht gesprochen werden, da die vorhandenen Differenzen zu gering waren.

Da sich auf Grund von Sporen- und Mycelmessungen keine Rassenunterschiede bei *Streptomyces scabies* feststellen ließen, die Herkünfte sich aber in ihrem Kulturcharakter deutlich unterschieden, habe ich bei einigen *Streptomyces*-Arten, die keine Schorfbildung an Kartoffeln hervorrufen,

Sporenmessungen vorgenommen. Aus den Zahlenangaben in Tabelle 7 ist zu entnehmen, daß sich einzelne Arten in der Sporengröße deutlich unterscheiden. Neben fast runden Sporen konnten ovale, in anderen Fällen zylindrische Formen beobachtet werden. Es ergibt sich aus diesen Untersuchungen, daß, wenn größere Unterschiede bei den untersuchten Vertretern von *Streptomyces scabies* vorhanden gewesen wären, diese hätten erfaßt werden können.

Tabelle 7

Sporenlänge und -breite von zehn *Streptomyces sp.* auf Glukose-Nitratagar (Karbolfuchsinfärbung)

Nr. der Isolierung	Luftmycel-farbe	Substrat-färbung	Sporenlänge in $^1/_{10}$ μ	Sporenbreite in $^1/_{10}$ μ
60	hellrosa	—	11,09 ± 0,02	10,56 ± 0,07
76	grüngrau	violett	7,72 ± 0,13	7,59 ± 0,13
92	hellgrau	blaurot	8,26 ± 0,18	7,92 ± 0,08
103	„	dunkelbraun	8,33 ± 0,15	7,15 ± 0,03
144 a	grüngrau	—	11,00 ± 0,12	8,76 ± 0,09
168 bl.	hellgrau	blau	11,91 ± 0,18	8,03 ± 0,09
168 rt.	„	rot	11,28 ± 0,09	9,02 ± 0,10
176	weiß	—	11,19 ± 0,12	8,14 ± 0,10
213	dunkelgrau	rotbraun	12,74 ± 0,25	8,36 ± 0,05
229	hellrosa	—	12,43 ± 0,02	10,56 ± 0,07

c) Wuchsformen

Zur morphologischen Charakterisierung eines niederen Organismus gehört auch die Beschreibung seiner Besonderheiten bezüglich der Kolonienbildungsformen bzw. seines Wuchstypes. Der Wuchstyp ist von einer größeren Anzahl Faktoren abhängig; seine Beurteilung unter konstanten Bedingungen ergibt jedoch die Möglichkeit, innerhalb einer bestimmten Art verschiedene Rassen zu unterscheiden, die bei der Untersuchung der morphologischen Einzelelemente nicht zu differenzieren sind. Nach meinen Beobachtungen ist das sicherlich sehr komplizierte Merkmal „Wuchstyp" verhältnismäßig konstant, wenn nicht solche Faktoren zur Einwirkung gelangen, die eine normale Entwicklung des Organismus verhindern. Die Charakterisierung des Wuchstypes verschiedener Herkünfte von *Streptomyces scabies* soll an späterer Stelle erfolgen, wobei gleichzeitig auf physiologische Besonderheiten hingewiesen wird.

B. Untersuchungen zur Physiologie von *Streptomyces scabies*

Die Kenntnis der physiologischen Eigenschaften eines phytopathogenen Organismus ist nicht allein vom Standpunkt der künstlichen Kultur wichtig, sondern ermöglicht, wenn auch mit gewissen Einschränkungen, einen Einblick in sein Verhalten während der parasitischen und gegebenenfalls auch saprophytischen Phase.

Von besonderer Bedeutung erscheint hierbei das Studium verschiedener Fermentsysteme, da bei einer Reihe von phytopathogenen Organismen wahrscheinlich gemacht werden konnte, daß das fermentative Reaktionsvermögen ausschlaggebend für die parasitische Fähigkeit ist.

Es lag daher nahe, einige fermentative Eigenschaften verschiedener Herkünfte des Kartoffelschorferregers, *Streptomyces scabies*, zu untersuchen, nicht nur um allgemeine physiologische Fragen zu klären, sondern um das Variationsvermögen einzelner Eigenschaften zu erfassen und bei größeren Unterschieden den Nachweis für das Vorliegen von physiologischen Rassen zu erbringen.

Zu diesem Zweck wurden folgende Reaktionen bei *Streptomyces scabies* untersucht:

a) Hydrolyse von Stärke,
b) Bildung von Tyrosinase,
c) Bildung von proteolytischen Fermenten,
d) Reduktion von Nitrat,
e) Bildung von Indol.

a) Hydrolyse von Stärke

Nach Waksman (65) besitzt *Streptomyces scabies* die Fähigkeit, Stärke zu hydrolisieren. Wingerberg (66) hat 41 Isolierungen bzw. Sektorenkulturen und Varianten auf ihr Verhalten gegenüber Stärke geprüft und gezeigt, daß die Fähigkeit zur Ausbildung stärkehydrolisierender Fermente bei den einzelnen Formen sehr unterschiedlich sein kann. Es konnten z. B. Formen gefunden werden, die zur Hydrolyse nicht in der Lage waren. Leider sind mit den letztgenannten Formen keine Infektionsversuche durchgeführt worden, so daß es möglich erscheint, daß es sich um Vertreter anderer, teilweise als Nichtschorferreger anzusehender Arten gehandelt hat. Taylor und Decker (60) stellten bei ihren Untersuchungen über Stärkehydrolyse an 66 geprüften Schorferregern ausnahmslos eine positive Reaktion fest.

Eigene Untersuchungen über die Variationsbreite der Stärkehydrolyse bei *Streptomyces scabies* wurden in folgender Weise durchgeführt:

Versuchsmethodik

Für alle Versuche wurde folgender Nährboden nach Waksman (65) benutzt:

Lösliche Stärke (Merk) ..	2 g
K_2HPO_4	0,5 g
$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$	0,2 g
$CaCl_2$	0,05 g
$NaNO_3$	0,05 g
Asparagin	0,05 g
$Fe_2(SO_4)_3$	Spur
Aqua dest.	1000 ccm
Agar	20 g
pH	6,9

Der Nährboden wurde nach der ersten Sterilisation zu je 20 ccm in Reagenzgläser gefüllt, anschließend dreimal sterilisiert und in sterile Petrischalen (Durchmesser 9 cm) ausgegossen. Nach dem Erkalten des Nährbodens wurde dieser an zwei Stellen mit je einer Öse einer hochprozentigen Sporensuspension beimpft. Die Ausgangskulturen waren gleichaltrig und auf gleichem Nährboden angezogen worden. Die Versuche wurden drei Tage bei 28 ° C bebrütet und standen die übrige Zeit bei Zimmertemperatur (20 ° C). Zur Bewertung der Intensität der Stärkehydrolyse wurde der bewachsene Nährboden mit einer 1 : 3 verdünnten Lugolschen Lösung übergossen und die ungefärbte Zone an vier im Kreuz liegenden Stellen gemessen.

In mehreren Versuchsreihen wurden insgesamt 80 verschiedene Herkünfte von *Streptomyces scabies* auf ihre Fähigkeit zur Stärkehydrolyse untersucht. Dabei konnte festgestellt werden, daß die Zerlegung der Stärke in niedere Bausteine ein *Streptomyces scabies* allgemein eigenes Merkmal ist. Es lassen sich dabei sehr deutliche quantitative Unterschiede beobachten. Bei drei Herkünften konnte der Abbau der Stärke nicht nachgewiesen werden. Die Versuche mit diesen Stämmen wurden mehrfach wiederholt und brachten stets das gleiche Ergebnis. Auf Grund der Vorprüfungen wurden acht Herkünfte ausgelesen, die sich durch starke quantitative und qualitative Unterschiede ausgezeichnet hatten. Von diesen Stämmen wurden durch Verdünnungsreihen Einsporkulturen angelegt. Diese Organismen hatten ihren pathogenen Charakter bereits unter Beweis gestellt. Die Anzucht des Infektionsmaterials erfolgte für den folgenden Versuch auf einem Glukose-Nitrat-Nährboden unter gleichen Bedingungen. Der Ansatz des Versuches erfolgte in der oben beschriebenen Weise. Als Stärkequellen wurden lösliche Stärke, Kartoffelstärke, Weizenstärke und Maisstärke gewählt. Die Ergebnisse für lösliche

Tabelle 8

Hydrolyse von löslicher Stärke

Nr. der Isolierung	Koloniengröße in mm	Luftmycel in %	Stärkefreie Zone in mm
E_2 18	6,30 ± 0,33	80	7,1 ± 0,33
E_3 75	5,33 ± 0,51	80	1 ± 0,28
E_3 94	7,16 ± 0,27	100	5,8 ± 0,29
E_3 95	6,50 ± 6,16	100	0,0
E_3 124	6,70 ± 0,21	100	0,0
E_1 130	8,50 ± 0,42	100	6,5 ± 0,40
E_3 171	10,17 ± 0,34	80	0,0
E_2 236	9,75 ± 0,56	100	3,5 ± 0,28

Stärke sind in Tabelle 8 und Abb. 7 dargestellt. Die Herkünfte „E_2 18“ und „E_3 94“ hydrolysierten die Stärke am intensivsten, dann folgen „E_1 130“ und „E_2 236“. Sehr schwach zeigte sich, wie auch in den vorangegangenen Versuchen, „E_3 75“. Bei den Herkünften „E_3 95“, „E_3 124“ und „E_2 171“

konnte keine amylolytische Fähigkeit nachgewiesen werden. Die vorliegenden Ergebnisse stimmen mit denen der Vorversuche überein. Die anderen Stärkequellen zeigten das gleiche Bild. Die unterschiedliche quantitative Ausbildung amylolitischer Fermente konnte in mehrfachen Versuchsreihen, die sich über einen längeren Zeitraum erstreckten, nachgewiesen werden. Auf Grund dieser Konstanz wird die Erklärung durch reine Modifikationen ausgeschlossen, und es scheint berechtigt, hier von physiologischen Rassen zu sprechen. Ein Vergleich der Koloniengröße und der Stärkehydrolyse läßt keine Korrelation zwischen den beiden Leistungen, zu denen der Pilz befähigt ist, erkennen; auch die Ausbildung von Luftmycel hat keinen Einfluß auf die Stärkehydrolyse.

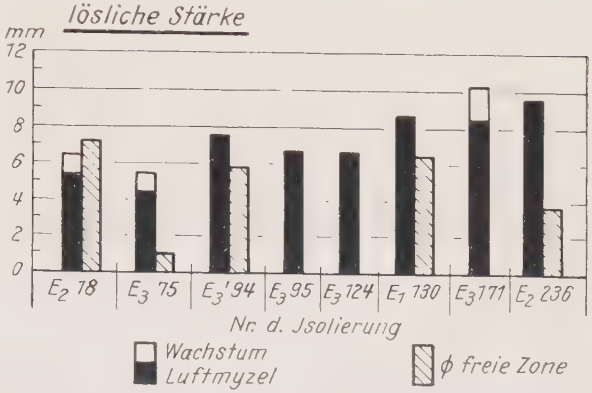


Abb. 7. Physiologische Rassen von *Streptomyces scabies* ohne und mit starker amylolytischer Fähigkeit

In Abb. 8 ist die Reaktion von fünf Herkünften auf Kartoffelstärke dargestellt. Eine deutliche „Hofbildung" ist bei „E_1 130" und „E_2 236" ersichtlich, während bei den übrigen Herkünften die Jodfärbung der Stärke bis an den Kolonienrand heranreicht.

Die weiteren Versuche beschäftigten sich mit der Frage, ob bei den nichthydrolysierenden Herkünften auch bei längerer Kulturzeit die Stärke unver-

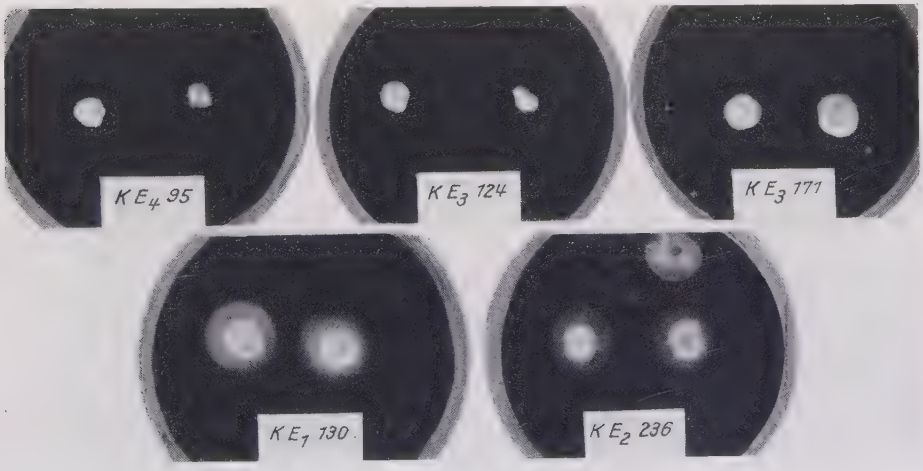


Abb. 8. Hydrolyse von Kartoffelstärke durch *Streptomyces scabies*

ändert bleibt. Um den Einfluß des Agars auszuschalten, wurden als Nährmedien Stärkelösungen folgender Zusammensetzung verwendet:

Stärke	20 g
K_2HPO_4	1 g
$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$	0,5 g
KCl	0,5 g
$NaNO_3$	2 g
$CaCO_3$	2 g
Aqua dest.	1000 ccm

Als Stärkequellen dienten wieder Mais-, Weizen-, Kartoffel- und lösliche Stärke. Die Beimpfung von je 25 ccm Nährlösung in 100-ccm-Erlenmeyerkolben erfolgte mit 0,2 ccm einer hochkonzentrierten Sporensuspension. Der Versuch stand bei Zimmertemperatur (19 bis 21 ° C) in neunfacher Wiederholung. Die Auswertung erfolgte bei jeweils drei Kolben nach 14, 28 und 37 Tagen. Der Abbaugrad der Stärke wurde mit Hilfe Lugolscher Lösung geprüft.

Es ergab sich, daß alle Herkünfte, deren amylolytische Fähigkeit nachgewiesen wurde, bereits nach 14 Tagen den größten Teil der Stärke abgebaut hatten, während die nichthydrolysierenden Stämme erst nach 37 Tagen die ersten Abbauerscheinungen erkennen ließen (rotviolette Farbe nach Jodzusatz). Es lag hier zwar trotz intensiven Wachstums kein völliger Abbau vor, jedoch der Beginn einer Umwandlung der höheren Kohlenhydrate zu Zwischenprodukten. Ob ein restloser Abbau bei diesen Formen erfolgen kann, wurde nicht geprüft. Aus diesen Versuchen glaube ich entnehmen zu können, daß es sich hinsichtlich der Ausbildung stärkeabbauender Enzyme bei den untersuchten Formen um qualitative Unterschiede handelt, deren Größe dazu berechtigt, bei einzelnen Herkünften von physiologischen Rassen zu sprechen.

Es kann der Einwand erhoben werden, daß die gefundenen Rassen durch die künstliche Kultur die Fähigkeit der Stärkehydrolyse verloren haben. Dagegen sprechen die frühzeitige Entdeckung dieser Formen, ihre uneingeschränkte Vitalität, die in der fortlaufenden Kultivierung immer wieder zum Ausdruck kam, und die hohe Pathogenität, die in mehreren Prüfungen auf Soja- und Buschbohnen ermittelt wurde.

Es war in diesem Zusammenhang notwendig, festzustellen, ob eine nichthydrolysierende Rasse nach erneuter Infektion hinsichtlich der Stärkehydrolyse gegenüber der Ausgangskultur Unterschiede erkennen läßt. Zu diesem Zweck wurden von drei Reisolierungen der Herkunft „E_3 124“ aus künstlich infizierten Buschbohnen je drei Einzelsporisolierungen angelegt und diese im Plattentest dem Ausgangsstamm gegenübergestellt. Alle neun Einzelsporkulturen unterschieden sich in der untersuchten Eigenschaft nicht. Keine von diesen war, wie auch die Ausgangskultur, die in fünffacher Wiederholung geprüft wurde, zur Stärkehydrolyse befähigt.

b) Bildung von Tyrosinase

Die Bildung der Tyrosinase wird bei Mikroorganismen allgemein an der Erzeugung eines dunkelbraunen Pigmentes auf tyrosinhaltigen Medien nachgewiesen. Nach Afanasiev (1) soll die Melaninbildung ein besonderes Kennzeichen der parasitischen Strahlenpilze sein, wodurch man diese von saprophytischen Vertretern unterscheiden kann. Wollenweber (67) bzw. Millard und Burr (31) fanden dagegen parasitische Strahlenpilzarten, die keine Melaninbildung aufwiesen. Afanasiev (1) zieht die Angaben über die Pathogenität dieser Formen in Zweifel, da sie unter unkontrollierbaren Bedingungen gewonnen worden sind. Auch nach Feststellung von Lutman und Cunningham (30) sollen alle bekannten Stämme von *Streptomyces scabies* ein braunes Pigment auf proteinhaltigen Medien bilden. Der von Wollenweber (67) und Millard und Burr (31) beschriebene Stamm von *Streptomyces scabies* zeigte gleichfalls diese Fähigkeit.

Nach Waksman (65) stellt die Pigmentbildung ein wichtiges Kulturmerkmal für die Beschreibung der Arten dar. Andererseits ist die Pigmentproduktion einer der variabelsten Faktoren bei den Strahlenpilzen. Die Variabilität braucht aber nicht auf inneren Ursachen zu beruhen, sondern kann z. B. von der Zusammensetzung des Mediums, dem Alter der Kultur und der Art der vorangegangenen Kultivierung abhängen.

Neuere Untersuchungen von Hollis (12) haben gezeigt, daß man bereits bei einem Stamm von *Streptomyces scabies* drei verschiedene Typen hinsichtlich der Melaninbildung unterscheiden kann, woraus auf eine hohe Variabilität geschlossen wird.

In eigenen Untersuchungen habe ich zunächst die Frage nach dem Verlauf der Tyrosinasereaktion meiner Isolierungen aufgegriffen und festgestellt, daß im Einklang mit Afanasiev (1) alle mit Sicherheit zu *Streptomyces scabies* zu rechnenden pathogenen Formen eine positive Tyrosinasereaktion aufwiesen. Dabei wurde unter Berücksichtigung der von Waksman (65) angeführten Faktoren, die einen Einfluß auf die Pigmentbildung ausüben, folgende Versuchsdurchführung gewählt:

Die Anzucht des Infektionsmaterials erfolgte gleichzeitig unter gleichen Kulturbedingungen. Nachdem alle Herkünfte Luftsporen gebildet hatten, wurden konzentrierte Sporensuspensionen hergestellt. Als Nährboden diente zu je 10 ccm in Reagenzgläser abgefülltes Peptonwasser. Die Infektion erfolgte mit einer Öse der Sporensuspension. Die Bruttemperatur betrug 22° C, der pH-Wert des Mediums 7,7.

Die Auswertung der Versuche erfolgte zunächst rein qualitativ durch Beurteilung des Wachstums und der Pigmentbildung. Die Ergebnisse aus Untersuchungen an 64 verschiedenen Herkünften von *Streptomyces scabies* zeigten, daß eine starke Variabilität in der Pigmentbildung besteht. Es konnten extreme Formen gefunden werden, die durch alle Übergänge miteinander verbunden waren. Auf Grund der Vorversuche wurden einige besonders interessante Herkünfte ausgewählt und die Intensität der Tyrosinasereaktion

näher untersucht. Hinsichtlich der Färbung des Mediums kann man drei Typen unterscheiden: 1. schwach, 2. mittel und 3. stark färbende Formen. Das Wachstum scheint dabei keine besondere Bedeutung zu haben. Von den ausgewählten Erregerherkünften wurden Einzelsporkulturen angelegt, die in den weiteren Versuchen Verwendung fanden.

Bei der Beurteilung des Merkmales Pigmentbildung konnte auf qualitative Feststellungen nicht zurückgegriffen werden. Da quantitative Unterschiede mitunter sehr gering und ohne optische Hilfsmittel nicht sicher zu beurteilen waren, wurden Vorversuche über die Verwendung eines Pulfrich-Photometers durchgeführt. Bei Verwendung des Filters S 53 (Filterschwerpunkt 5330 Å) und der Küvette 9,93 konnten bei Relativmessungen vergleichbare Zahlenwerte erhalten werden, die als Grundlage einer Beurteilung der Tyrosinasereaktion geeignet erschienen.

Tabelle 9

Wachstum und Pigmentbildung auf Peptonwasser von acht verschiedenen Herkünften von *Streptomyces scabies*

Nr. der Isolierung	Kulturzeit 14 Tage		Kulturzeit 20 Tage	
	Wachstum	Durchlässigkeit in %	Wachstum	Durchlässigkeit in %
E_1 16	+++	28,2	++++	21,1
E_4 23	+++	20,5	++++	14,5
E_3 24	+++	21,45	++++	10,6
E_4 80	++	16,7	+++	6,9
E_1 121	+++	20,8	++++	10,1
E_3 124	+++	29,3	++++	17,7
E_4 134	+++	29,1	++++	17,1
E_2 236	++++	26,7	++++	25,1

Zeichenerklärung: Wachstum: ++++ sehr gut +++ gut ++ mittel.

In Tabelle 9 sind die Ergebnisse eines solchen Versuches mit acht auf Grund von Vorversuchen ausgewählten Herkünften zusammengestellt. Die Werte sind in % der vollen Durchlässigkeit angegeben. Die Herkünfte unterschieden sich bereits nach 14tägiger Kulturzeit in der Pigmentbildung. Die Unterschiede vergrößerten sich bei längerer Kulturzeit (etwa 20 Tage). Bei den untersuchten Herkünften scheint eine Korrelation zwischen Wachstum und Pigmentbildung nicht zu bestehen, da sich die Herkünfte in dieser Hinsicht nicht merklich unterschieden. Die Ergebnisse sind Mittelwerte aus drei Wiederholungen. Eine Kontrolle der pH-Werte des Kulturfiltrates ergab keine Unterschiede.

Zur Sicherung der Ergebnisse wurde dieser Versuch in gleicher Weise wiederholt. Auch hier erwiesen sich die Herkünfte „E_4 23“, „E_3 24“, „E_4 80“ und „E_1 121“ als starke Pigmentbildner, während „E_1 16“, „E_3 124“,

„E_4 134“ und „E_2 236“ zu wesentlich geringerer Farbstoffbildung in der Lage waren.

Es interessierte in diesem Zusammenhang auch die Frage, innerhalb welchen Zeitraumes sich die physiologische Differenzierung manifestiert, d. h. wann sich die ersten deutlichen Unterschiede zeigen, nach welcher Zeit die stärksten Differenzen zu erkennen sind und ob sich bei einer längeren Kulturzeit die einzelnen Stämme hinsichtlich ihrer Pigmentproduktion einander wieder nähern. Damit sollte gleichzeitig die Frage, ob es sich bei dem vorliegenden Versuchsmaterial um Modifikationen oder physiologische Rassen handelt, von einer anderen Seite her untersucht werden. Zu diesem Zweck wurde eine Versuchsreihe in dreifacher Wiederholung angelegt, wobei jeweils nach 14, 21, 28, 35 und 42 Tagen die Intensität der Pigmentbildung durch Relativmessungen mit Hilfe des Photometers festgestellt wurde.

Tabelle 10

Wachstum und Pigmentbildung von zehn Herkünften von *Streptomyces scabies* auf Peptonwasser nach 14- bis 42tägiger Kulturdauer

Nr. der Isolierung	Kulturdauer in Tagen 14 I	14 II	21 I	21 II	28 I	28 II	35 I	35 II	42 I	42 II
E_1 14	++++	59,2	++++	37,6	+++	27,08	++++	33,0	++++	22,5
E_1 16	++++	40,8	++++	43,3	++++	37,9	++++	32,3	++++	30,5
E_3 24	++++	34,5	++++	20.8	++++	20,3	++++	17,0	++++	16,5
E_4 80	++	22,4	++	14,9	+++	14,5	+++	18,6	++	17,6
E_1 90	+++	41,4	+++	23,8	+++	17,4	+++	16,2	+++	16,2
E_2 122	++++	27,0	++++	25,6	++++	21,1	++++	15,0	++++	17,8
E_1 127	++++	59,8	++++	55,6	++++	48,7	++++	45.0	++++	45,5
E_4 134	+++	32,0	++++	28,3	++++	31,5	++++	39,0	+++	32,3
E_4 211	++++	54,0	+++	30,3	++++	34,8	++++	30,8	++++	31,0
E_2 236	++++	43,5	++++	29,8	++++	34 4	++++	33,3	++++	30,1

Zeichenerklärung: I Wachstum: ++++ sehr gut +++ gut ++ mittel
II Durchlässigkeit = % der vollen Durchlässigkeit.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 10 und Abb. 9 zusammengefaßt. Es ergibt sich daraus, daß unter den herrschenden Versuchsbedingungen eine Beurteilung der Tyrosinasebildung, gemessen an der Produktion des dunkelbraunen Pigmentes, erst nach ungefähr 21 Tagen möglich ist. Zwar lassen sich zwischen extremen Formen schon nach 14 Tagen Unterschiede finden, im Laufe der weiteren Kulturzeit verstärken diese sich jedoch wesentlich. Vom 28. Tage an lassen sich die untersuchten Formen in drei Gruppen einteilen. Verfolgt man diese Kurven weiter, so läßt sich erkennen, daß wesentliche Verschiebungen nicht auftreten. Die Intensität der Farbstoffbildung hatte am 35. Tage ihr Maximum erreicht.

Es erhob sich ferner die Frage, ob zwischen den einzelnen Gruppen Unterschiede in der Pathogenität bestehen, so daß man über diesen Weg

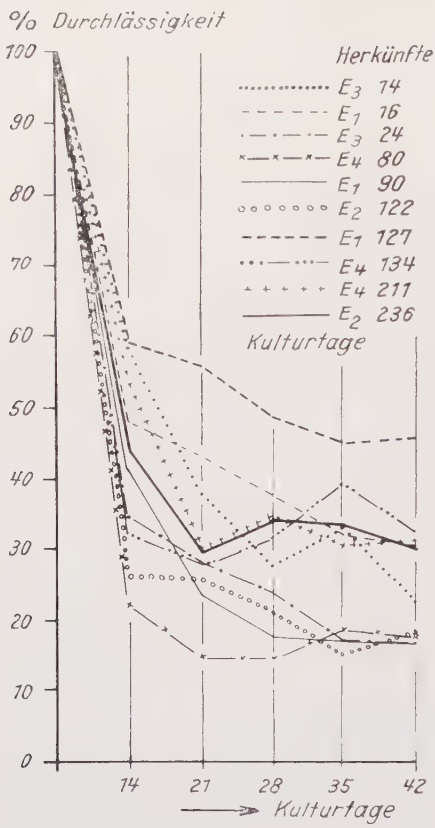


Abb. 9. Pigmentbildung von zehn Herkünften von *Streptomyces scabies* auf Peptonwasser nach 14- bis 42-tägiger Kulturdauer

eventuell auf Störungen im Ablauf bestimmter physiologischer Vorgänge schließen und damit die Zugehörigkeit zu der einen oder anderen Gruppe durch in künstlicher Kultur erworbene „Degenerationserscheinungen" erklären könnte. Die Untersuchungen über die Pathogenität, die nach der Methode HOOKER (14) in Bodenagar mit Buschbohnen (Sorte Saxa) durchgeführt wurden, ergaben, daß mit Ausnahme von „E_2 122" alle anderen Herkünfte nach wie vor pathogen waren und daß verschiedene durch eine besonders starke Aggressivität auffielen („E_1 16", „E_1 14", „E_4 134", „E_1 90", „E_4 211"). Die Fähigkeit, wenig oder viel Pigment zu bilden, steht nach diesen Erfahrungen in keinerlei Beziehung zum Pathogenitätsgrad.

Auch nach den über den Verlauf der Tyrosinasereaktion vorliegenden Ergebnissen müssen wir annehmen, daß es sich bei den Formen, die sich in mehrfachen Versuchsreihen deutlich unterschieden, um physiologisch verschiedene Herkünfte handelt, die man mit Rücksicht auf ihre morphologische Einheitlichkeit als physiologische Rassen bezeichnen kann.

c) Bildung proteolytischer Fermente

Nach WAKSMAN (64) ist die Fähigkeit der Gelatineverflüssigung bei *Streptomyces scabies* nur in geringem Maße ausgeprägt. NOLL (33) konnte auf Bouillongelatine nur oberflächliches Wachstum und keine Verflüssigung des Substrates feststellen. In eigenen Untersuchungen wurde der Frage nachgegangen, ob hinsichtlich Schnelligkeit und Ausmaß der Bildung jener Fermente bei einer größeren Anzahl von Herkünften Unterschiede bestehen. Bei der Prüfung von 22 Herkünften auf Nährgelatine nach WAGNER (63) ergab sich, daß *Streptomyces scabies* allgemein zur Gelatineverflüssigung in der Lage ist. Einzelne Stämme unterschieden sich in der quantitativen Ausbildung proteolytischer Enzyme. Es konnten schwach, mittel und stark verflüssigende Herkünfte gefunden werden. Die Frage nach einer Beziehung zur Pathogenität muß noch offenbleiben, da auch proteolytische Fermente von apathogenen Arten gebildet werden. Die Intensität der Gelatineverflüssigung kann

zusätzlich zur Charakterisierung der Herkünfte von *Streptomyces scabies* benutzt werden.

d) Wachstum und Reaktion auf Magermilch, Lackmusmilch und Bromkresolmilch

Die Ausbildung von proteolytischen Enzymen läßt sich in vielen Fällen durch die Kultur eines Organismus auf verschiedenen Milchmedien erkennen. Hierbei kann durch Zusätze von Indikatorfarbstoffen auch über andere physiologische Reaktionen Aufschluß erhalten werden. Die Proteolyse, bei der Milch auch Peptisierung genannt, wird an der Klärung der Milch sichtbar. Von den Strahlenpilzen werden dabei häufig Farbstoffe gebildet.

Über das Verhalten von *Streptomyces scabies* auf Magermilch wurde eingangs berichtet. Bei diesen Versuchen, die lediglich dem Zwecke einer Analyse der Isolierungen galten, konnten zwischen einzelnen Herkünften kleinere Unterschiede beobachtet werden. Es sollte daher untersucht werden, ob verschiedene Herkünfte von *Streptomyces scabies* auf Magermilch unter Zusatz von Indikatorfarbstoffen größere Unterschiede zeigen. Andererseits interessierte es zu erfahren, ob diese Medien, deren diagnostischer Wert zur Differenzierung verschiedener Arten außer Zweifel steht, sich auch für eine Rassenanalyse brauchbar erweisen.

Die Zubereitung der Magermilch erfolgte in der auf Seite 226 beschriebenen Weise. Vor dem Sterilisieren wurden nach Browning und Mackie (5) zu einem Teil der Milch 0,7 % einer Lackmustinktur bzw. 0,1 % einer gesättigten wäßrigen Lösung von Bromkresolpurpur zugefügt. Zwischen einer größeren Zahl verschiedener Erregerherkünfte konnten keine deutlichen Unterschiede festgestellt werden. Bei den als Vergleich einbezogenen nichtpathogenen Strahlenpilzen erfolgte bereits nach vier Tagen eine starke Peptisierung, während bei *Streptomyces scabies* erst nach 18 Tagen eine unterhalb der Kolonie beginnende Auflösung des Eiweißes beobachtet wurde. Der Lackmusfarbstoff wurde von allen Herkünften reduziert. Bromkresolmilch nahm bei *Streptomyces scabies* eine grünlichgraue Farbe an, bei den apathogenen Arten wurde sie innerhalb von 14 Tagen violett. Der Nachweis physiologischer Rassen konnte damit auf diesen Medien nicht erbracht werden.

e) Indolbildung

Für eine Reihe von Bakterien ist der Abbau des Tryptophans charakteristisch, der in manchen Fällen bis zum Indol führt. Der Nachweis dieser Verbindung ist daher von hohem diagnostischen Wert. In den folgenden Untersuchungen sollte der Frage nachgegangen werden, ob und in welchem Umfang von verschiedenen Herkünften von *Streptomyces scabies* Indol gebildet wird. Als Nährboden diente Peptonwasser (1 % Pepton, 0,5 % Kochsalz). Der Indolnachweis erfolgte nach Ehrlich-Böhm, in der Ausführungsform von Goré (18).

Bei zwölf von mir geprüften Herkünften konnte trotz mehrfacher Wiederholung des Versuches eine Indolbildung nicht nachgewiesen werden.

Streptomyces scabies scheint demnach nicht in der Lage zu sein, Tryptophan bis zum Indol abzubauen. Zu gleichen Ergebnissen kamen TAYLOR und DECKER (60) und STRUTZ (58), die eine größere Anzahl verschiedener Strahlenpilzarten untersuchten.

f) Nitratreduktion

Nach WAKSMAN (65) ist *Streptomyces scabies* in der Lage, Nitratstickstoff zu Nitrit zu reduzieren. Diese Erscheinung ist unter den Strahlenpilzen anscheinend weit verbreitet (24, 58). Bei eigenen Untersuchungen wurde ein modifizierter Glycerinnährböden nach v. PLOTHO (34) benutzt. Der Nachweis des Nitrits erfolgte kolorimetrisch mit α-Naphtylamin und Sulfanilsäure in der von LANGE (27) angegebenen Weise.

Tabelle 11

Bildung von Nitrit im Kulturfiltrat durch 14 Herkünfte von *Streptomyces scabies* auf Glycerinlösung nach neuntägiger Kulturzeit

Nr. der Isolierung	Wachstum	Durchlässigkeit des Kulturfiltrates[1]) Kulturen		
		1	2	3
E_1 14	++++	51,–	36,–	52,–
E_1 16	++++	40,8	51,–	36,3
E_4 23	++++	62,–	60,–	33,6
E_3 24	+++	32,3	46,6	44,1
E_4 44	++++	2,3	1,–	1,2
E_4 56	++++	10,–	8,5	10,–
E_1 90	++++	29,–	45,–	41,–
E_2 96	++++	59,–	56,5	57,3
E_1 120	++++	56,–	63,–	52,–
E_2 137	++++	15,2	14,1	25,–
E_2 145	+++	2,8	5,–	20,–
E_3 159	++++	2,–	6,9	2,–
E_5 182	++++	18.8	18,3	14,–
Kontrollen	—	98,–	97,–	98,–
Standard		63,–	65,–	65,–

[1]) Die Werte sind in % der vollen Durchlässigkeit angegeben.

Bei Vorversuchen mit 42 Erregerherkünften konnten nur quantitative Unterschiede gefunden werden, die mitunter sehr groß waren. In zwei weiteren Versuchen an einem durch Vorversuche ausgewählten Material wurde das Ausmaß der Nitratreduktion quantitativ-kolorimetrisch mit Hilfe des Pulfrich-Photometers untersucht. Aus den Ergebnissen in Tabelle 11 wird ersichtlich, daß sich die einzelnen Erregerherkünfte in dieser physiologischen Eigenschaft stark unterscheiden. Die Herkünfte „E_4 44“, „E_2 145“ und „E_3 159“ zeichneten sich durch ein besonders hohes Reduktionsvermögen aus. Die Reaktion des Standards entsprach einer Konzentration von 0,0001 mg Nitrit-

stickstoff je ccm. Eine Reduktion bis zum Ammoniak konnte mit Neßlers Reagenz in keinem Falle festgestellt werden.

g) Variation des Kulturcharakters

Nach Stakman (57) ist es möglich, physiologische Rassen auf Grund des Kulturcharakters auf künstlichen Medien zu unterscheiden. Bei einer Reihe phytopathogener Pilze konnte auch auf diesem Wege eine physiologische Spezialisierung nachgewiesen werden. Auf Kulturunterschiede von physiologischen Rassen bei *Streptomyces scabies* wird von Leach, Decker und Becker (28) und de Bruyn (6) hingewiesen. Schaal (36) konnte an den 1940 beschriebenen Rassen keine Unterschiede feststellen. In einer späteren Arbeit des gleichen Verfassers (37) konnte gezeigt werden, daß sich einzelne Herkünfte des Erregers im Wachstum, der Mycelfarbe und der Pigmentierung des Mediums deutlich unterscheiden. Eingehendere Untersuchungen dieser Verhältnisse verdanken wir Thomas (62), der seine physiologischen Formen gleichfalls an der Färbung des Mycels und des Mediums sowie an der Ausnutzbarkeit verschiedener Nährstoffe zu unterscheiden vermochte.

In eigenen Untersuchungen wurde zunächst die Frage nach dem Einfluß verschiedener organischer und anorganischer Stickstoffquellen auf das Wachstum und die Entwicklung von *Streptomyces scabies* aufgegriffen, worüber bisher nur wenig bekannt ist. Gleichzeitig sollte geprüft werden, ob die bereits in anderen Untersuchungen erkannten Rassen auch hierbei Unterschiede zeigen, die die Annahme physiologischer Rassen rechtfertigen. Nicht zuletzt wurde als Ziel eine Zusammenstellung von Differentialnährböden angestrebt.

Folgende Verbindungen kamen als Stickstoffquellen zur Verwendung: Natriumnitrat, Kaliumnitrat, Calciumnitrat, Ammoniumnitrat, Natriumnitrit, Ammoniumsulfat, Ammoniumphosphat, Ammoniumchlorid, Harnstoff, Asparagin, Glykokoll, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Tyrosin und Alanin. Von den anorganischen Verbindungen wurden 0,5 g N/l und von den organischen 0,25 g N/l des auf S. 232 angeführten Nährbodens gegeben. In den Kulturversuchen von durchschnittlich 60tägiger Dauer konnten bei der Verwendung von zehn Herkünften von *Streptomyces scabies* deutliche Unterschiede des Wachstumscharakters (Wuchstyp) gefunden werden. Der Wuchstyp, d. h. die unter bestimmten Bedingungen erscheinende typische Art des Wachstums und der Entwicklung, wird bei den Streptomyceten durch folgende Eigenschaften charakterisiert:

1. Anordnung des Substratmycels,
2. Farbe des Substratmycels,
3. Anteil und Verteilung des Luftmycels,
4. Farbe des Luftmycels.

Bei den untersuchten Herkünften von *Streptomyces scabies* konnten folgende Variationen der einzelnen Faktoren festgestellt werden:

I. Anordnung des vegetativen Mycels	1. breite, flache Kolonien, ungefaltet oder Faltung wenig ausgeprägt, 2. breite, flache Kolonien, deutlich gefaltet, a) flache Kolonien grob gekräuselt, b) flache Kolonien fein gekräuselt, 3. kleinere, erhöhte Kolonien, ungefaltet, 4. kleinere, erhöhte Kolonien, gefaltet;
II. Farbe des vegetativen Mycels	1. grau, 2. graubraun, 3. braun, 4. dunkelbraun, 5. gelb bis gelbbraun;
III. Anteil des Luftmycels	1. reichlich, 2. mäßig, 3. gering, 4. nicht vorhanden;
IV. Farbe des Luftmycels	1. grau, 2. weißlich grau oder hellgrau, 3. weiß.

Mit Hilfe dieses Schlüssels wurde jeder der untersuchten Herkünfte eine Art Wuchstypenbezeichnung gegeben. Die Wuchstypenunterschiede waren auf Kalium- und Natriumnitrat besonders groß. In der Tabelle 12 sind die Wuchstypenbezeichnungen für neun Herkünfte von *Streptomyces scabies* auf Kalium- und Natriumnitrat zusammengestellt. Es geht daraus hervor, daß sich die Herkünfte „E_4 211", „E_1 130", „E_3 95" und „E_4 44" besonders unterscheiden. Jeder dieser Stämme verkörpert einen bestimmten Wuchstyp, wobei

Tabelle 12

Wuchstypen von acht Herkünften von *Streptomyces scabies* auf Kaliumnitrat und Natriumnitrat

Nr. der Isolierung	I		II		III		IV	
	KNO_3	$NaNO_3$	KNO_3	$NaNO_3$	KNO_3	$NaNO_3$	KNO_3	$NaNO_3$
E_1 16	3	–	4	–	3	–	3	–
E_4 23	3	3	2	2	3	3	2	2
E_4 44	3	3	2	2	1	2	2	2
E_3 95	4	4	3	3	1	1	1	1
E_1 130	1	1	1	1	1	1	1	1
E_3 159	1	1	2	2	2	2	1	1
E_4 211	4	4	3 4	4	4	4	–	–
E_2 236	1	1	4	3	1	2	1	1

Zeichenerklärung: Entsprechend der Einteilung Seite 250.
I Anordnung des vegetativen Mycels
II Farbe des vegetativen Mycels
III Anteil und Verteilung des Luftmycels
IV Farbe des Luftmycels

unter den angewandten Bedingungen zwischen KNO_3 und $NaNO_3$ keine Unterschiede zutage traten. Die untersuchten Herkünfte ließen sich in vier Gruppen einteilen, deren typische Vertreter die obengenannten Stämme sind. Die Abb. 10 zeigt Wuchstypenunterschiede von drei Herkünften auf $NaNO_3$.

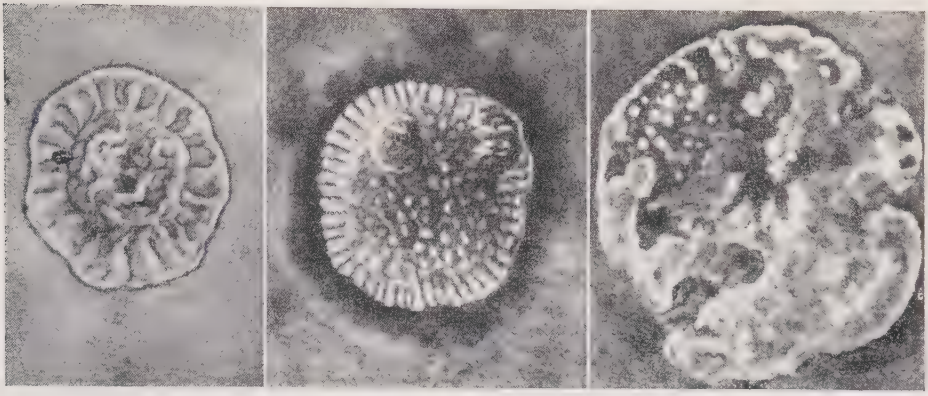


Abb. 10. Wuchstypen von *Streptomyces scabies* auf Natriumnitrat (von links nach rechts: E_3 95, E_4 211, E_1 130)

Auf Calciumnitrat sowie auf allen Ammoniumverbindungen konnten trotz Verwendung des gleichen Infektionsmaterials diese Unterschiede nicht festgestellt werden. Das Wuchsbild der einzelnen Stämme war fast vollständig gleich. Die geringfügigen Unterschiede reichten nicht aus, um eine Rassenanalyse durchzuführen.

Bei den Untersuchungen auf organischen Stickstoffquellen konnten in stärkerem Maße als bei der Verwendung anorganischer Verbindungen Unterschiede in der Wuchsleistung zwischen einzelnen Rassen beobachtet werden. Als beste N-Quellen erwiesen sich Glykokoll und Alanin. Die größten Unterschiede in der Wuchsleistung waren auf Asparagin, Asparaginsäure und Glutaminsäure zu beobachten. Einzelne Herkünfte unterschieden sich in ihrem Wuchstyp besonders deutlich auf Asparaginsäure und Glutaminsäure. In der Tabelle 13 sind die Wuchstypenbezeichnungen für neun untersuchte Herkünfte von *Streptomyces scabies* auf den beiden obengenannten Verbindungen zusammengestellt. Die Unterschiede sind auch in den Abb. 11 u. 12 ersichtlich.

Betrachtet man den Einfluß der untersuchten N-Verbindungen auf das Wachstum und die Entwicklung von *Streptomyces scabies*-Herkünften zusammenfassend, so ist festzustellen, daß mit Ausnahme der Ammoniumverbindungen und des Tyrosins alle anderen gut verwertet werden können. Es ist möglich, auf Grund der Wuchsleistung einzelne Rassen zu finden, denen wahrscheinlich eine bessere Aufnahmefähigkeit zu eigen ist. Wesentlich eindrucksvoller sind die Unterschiede, die sich bei einzelnen Rassen im Wuchstyp ergaben.

Tabelle 13

Wuchstypen von neun Isolierungen von *Streptomyces scabies* auf Asparaginsäure und Glutaminsäure

Nr. der Isolierung	I		II		III		IV	
	Asparaginsäure	Glutaminsäure	Asparaginsäure	Glutaminsäure	Asparaginsäure	Glutaminsäure	Asparaginsäure	Glutaminsäure
E_1 16	3	3	2	2	1	1	1	1
E_4 44	3	3	2	2	1	1	1	1
E_3 94	1	1	2	2	2	1	2	2
E_3 95	4	4	1	1	1	1	1	1
E_3 159	1	1	4	4	2	1	2	(creme)
E_1 161	3	3	2	2	1	1	1	1
E_4 211	3	3	4	4	3	3	3	3
E_2 236	3	4	3	3	1	1	2	1
E_1 130	1	2	1	2	2	1	1	2

Zeichenerklärung: Entsprechend der Einteilung Seite 250.
I Anordnung des vegetativen Mycels
II Farbe des vegetativen Mycels
III Anteil und Verteilung des Luftmycels
IV Farbe des Luftmycels

Die einzelnen Verbindungen unterscheiden sich hinsichtlich ihres diagnostischen Wertes zur Rassenanalyse auf stoffwechselphysiologischer Grundlage deutlich. Kalium- und Natriumnitrat, Asparaginsäure und Glutaminsäure ließen physiologische Unterschiede besonders deutlich erscheinen. Als ungeeignet erwiesen sich alle Ammoniumsalze, Natriumnitrit und Tyrosin. Die

Abb. 11. Wuchstypen von *Streptomyces scabies* auf Asparaginsäure (von links nach rechts: E_2 236, E_3 95, E_3 159)

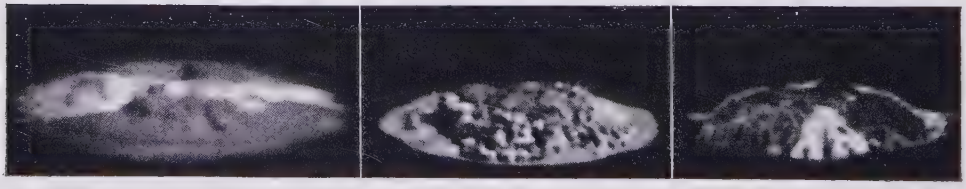


Abb. 12. Wuchstypen von *Streptomyces scabies* auf Glutaminsäure (von links nach rechts: E_3 159, E_1 16, E_4 211)

übrigen Verbindungen nehmen eine Zwischenstellung ein und können zur Ergänzung des Wuchsbildes mit herangezogen werden. Die in die Untersuchungen einbezogenen Herkünfte, die teilweise bei vorangegangenen Prüfungen besondere Eigenarten herausgestellt hatten, unterschieden sich in ihrem Wuchsbild mitunter so stark, daß von physiologischen Rassen gesprochen werden kann. Einzelne Herkünfte wiesen auf einer Reihe von Medien nur geringfügige Unterschiede auf und könnten zu Gruppen zusammengefaßt werden. Andererseits unterschied sich die Rasse „E_3 95" immer so wesentlich, daß man an eine Artdifferenzierung denken könnte, wenn nicht eine Reihe von wichtigen Merkmalen diese Rasse mit anderen verbinden würde.

Der Einfluß verschiedener Kohlenstoffverbindungen

Nachdem auf verschiedenen Stickstoffquellen eine deutliche Differenzierung in mehrere Rassen des Schorferregers in Erscheinung getreten war, war zu vermuten, daß auch bei der Verwendung einer größeren Anzahl von Kohlenstoffquellen die einzelnen Herkünfte ihren Rassencharakter unter Beweis stellen würden. In der Literatur werden eine Reihe von Kohlenstoffverbindungen angeführt, deren Aufnahmefähigkeit durch *Streptomyces scabies* nachgewiesen werden konnte.

Um zu erfahren, welche Verbindungen sich unter den gegebenen Verhältnissen für den vorliegenden Zweck eignen würden, wurden in einem Vorversuch folgende 13 Kohlenhydrate gegen drei Herkünfte geprüft: Maltose, Laktose, d-Galaktose, d-Mannit, Rohrzucker (roh), Glyzerin, Zellulose (Filterpapier), wasserunlösliche Zellulose (aufbereitet nach Fuller und Norman, zitiert bei Allen [2]), Inulin, Kartoffelstärke, lösliche Stärke (Zulkowski), Dextrin und d-Glukose. Die Konzentration der Kohlenhydrate wurde entsprechend den Angaben von Hubbard und Thornberry (16) gewählt, indem alle Monosaccharide 0,05 molar, alle Disaccharide 0,025 molar angewendet wurden. Alle Substanzen, deren Molekulargewicht nicht genau feststellbar war, wurden 1 %ig gegeben, Glyzerin kam 0,1 molar zur Anwendung. Als Grundmedium fand der bereits in vorangegangenen Versuchen benutzte Nährboden Verwendung (siehe Seite 232). Alle verwendeten Verbindungen, mit Ausnahme von Zellulose, waren als C-Quelle nutzbar.

In einem nachfolgenden Hauptversuch wurden alle obenerwähnten Verbindungen in der angegebenen Konzentration verwendet. Der Versuch stand in dreifacher Wiederholung und wurde mit zwölf verschiedenen Herkünften von *Streptomyces scabies* durchgeführt. Die Bruttemperatur betrug 25 ° C ± 1,5 ° C.

Die in zehntägigen Intervallen sechsmal durchgeführten Kolonienmessungen ergaben, wie auf den N-Verbindungen, deutliche Unterschiede in der Wuchsleistung, besonders auf Laktose, Galaktose, Inulin, Kartoffelstärke und Glukose. Herkünfte mit großer Wuchsleistung hatten diese bereits bei vorangegangenen Untersuchungen unter Beweis gestellt. Unterschiede im Wuchstyp konnten vor allen Dingen auf Laktose, Galaktose, Glukose und Kartoffel-

Tabelle 14

Wuchstypen von zwölf Herkünften von *Streptomyces scabies* auf Laktose und Galaktose

Nr. der Isolierung	I		II		III		IV	
	Laktose	Galaktose	Laktose	Galaktose	Laktose	Galaktose	Laktose	Galaktose
E_3 14	1	2	2	2	3	2	3	4
E_1 16	4	4	3	4	3	3	2	1
E_4 23	2	1	3	1	1	1	3	4
E_4 80	1	1	1	1	1	1	3	3
E_3 94	3	3	2	1	1	1	3	3
E_3 95	4	4	1	2	1	2	2	3
E_3 124	2	2	1	1	2	2	2	3
E_1 130	1	1	1	1	2	1	3	4
E_4 134	1	1	1	2	1	1	3	4
E_3 159	1	1	1	1	1	1	3	4
E_1 161	1	1	1	1	1	1	2	2
E_4 211	4	4	4	4	3	3	1	1

Zeichenerklärung: Entsprechend der Einteilung Seite 250.
I Anordnung des vegetativen Mycels
II Farbe des vegetativen Mycels
III Anteil und Verteilung des Luftmycels
IV Farbe des Luftmycels

stärke gefunden werden. In der Tabelle 14 sind die Wuchstypen von zwölf Herkünften von *Streptomyces scabies* auf Laktose und Galaktose zusammengestellt. Die Abb. 13 bringt einen Überblick über die verschiedenen Wuchsformen auf Kartoffelstärke. Auf den anderen Kohlenhydraten konnten nur geringfügige Abweichungen einzelner Herkünfte festgestellt werden. Ein merkwürdiges Verhalten war bei den Herkünften „E_3 124" und „E_3 95" auf Kartoffelstärke zu beobachten. „E_3 124" bildete ein hellbraunes submerses Mycel mit wenig Luftmycel, während „E_3 95" nur dünne Kolonien erzeugte, die stark zur Sektorenbildung neigten, wie es sonst noch nicht festgestellt werden konnte. Eine Erklärung könnte in der Tatsache liegen, daß beide Herkünfte nur in geringem Umfang zum Stärkeabbau befähigt sind.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß auch einzelne Kohlenhydrate einen diagnostischen Wert besitzen und zur Rassenanalyse herangezogen werden können. Bei den vorliegenden Untersuchungen ergaben Galaktose, Laktose, Stärke, Dextrin und Glukose sehr deutliche Unterschiede im Wuchsbild. Bei einzelnen Herkünften trat der unterschiedliche Rassencharakter klar zutage. Mehrere Herkünfte konnten zu Gruppen zusammengefaßt werden.

Der Einfluß komplexer Medien

In den vorangegangenen Untersuchungen wurden synthetische Nährböden benutzt, deren chemische Zusammensetzung bekannt war. In weiteren Untersuchungen sollte daher geprüft werden, ob die festgestellten Unter-

schiede zwischen einzelnen Herkünften des Erregers auch auf Nährböden sichtbar werden, die organische Substanzen in mannigfaltiger Zusammensetzung enthalten.

Es wurden Kulturversuche auf folgenden Medien durchgeführt: Melasse-Chapek-Dox-Agar, Glukose-Pepton-Agar, Emmerson-Nährboden, Kartoffelsaftagar, Kartoffelnähragar und Hefeauszugagar. Die Nährböden wurden mit zwölf verschiedenen Herkünften von *Streptomyces scabies* beimpft.

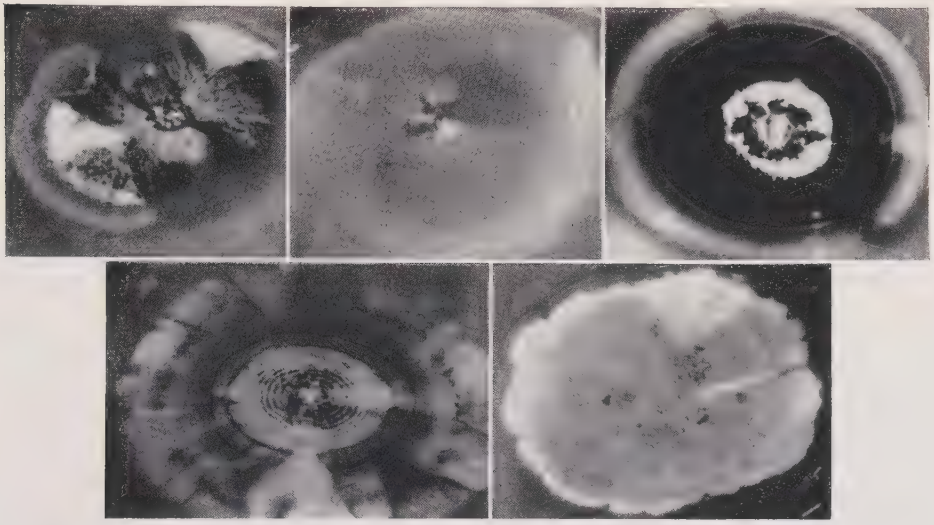


Abb. 13. Wuchstypen von *Streptomyces scabies* auf Kartoffelstärke
(Obere Reihe von links nach rechts: E_3 95, E_3 124, E_1 130; untere Reihe von links nach rechts: E_3 159, E_4 23)

Es konnten nur Unterschiede in den Wuchsleistungen beobachtet werden, das Wuchsbild war bei allen Erregerherkünften, trotzdem sie bei vorangegangenen Versuchen große Unterschiede gezeigt hatten, einheitlich.

Die Erklärung für dieses Verhalten liegt vermutlich in der komplexen Zusammensetzung der organischen Substanzen, die alle Stoffe enthalten, die für den Erreger notwendig sind, ohne daß besondere physiologische Leistungen in Anspruch genommen werden müssen. Deshalb sind solche Nährböden für eine Rassenanalyse auf stoffwechselphysiologischer Grundlage nicht geeignet.

h) Verhalten gegenüber der Reaktion des Mediums

Die Tatsache, daß das Auftreten des Kartoffelschorfes von der Bodenreaktion abhängig ist, wird von vielen Autoren an Hand von Beobachtungen und Versuchsergebnissen belegt. Durch einen Anstieg der H-Ionenkonzentration erfolgt eine Verminderung des Schorfbefalles der Kartoffel. Es fehlt aber auch nicht an gegenteiligen Behauptungen. So beobachtete Krebs (26)

den Kartoffelschorf auf Böden mit einem pH-Wert von 4,4 bis 6,1, und HOLLRUNG (13) kam nach umfangreichen Untersuchungen zu dem gleichen Ergebnis. Entgegengesetzt der allgemeinen Ansicht berichtet Goss (10) von einer Verminderung des Schorfes bei steigendem pH-Wert in einem Bereich von 5,92 bis 8,25.

Trotzdem ist an der Richtigkeit der oben dargestellten Beziehung zwischen Schorfauftreten und alkalischer Bodenreaktion nicht zu zweifeln. Die Begründung für diese Erscheinung wurde bereits frühzeitig in der Empfindlichkeit des Erregers gegenüber einer sauren Reaktion des Substrates gesehen, worauf schon THAXTER (61) hinwies. Gleiche Ergebnisse liegen von WOLLENWEBER (67) und MÜNTER (32) vor, wobei letzterer mit Bodenactinomyceten arbeitete. WINGERBERG (66) konnte allerdings nachweisen, daß einzelne Isolierungen von mutmaßlichen Schorferregern schon bei pH 4 wuchsen. Ob es sich hierbei wirklich um Erreger des Kartoffelschorfes handelt, läßt sich aus den auf Seite 239 angeführten Gründen nicht entscheiden.

Von SANFORD (35) wird die Variationsbreite der Sporenkeimung von *Streptomyces scabies* von pH 5,36 bis pH 10 angegeben. AFANASIEV (1) schreibt die hauptsächliche Wirkung nicht der H-Ionenkonzentration, sondern der Toxizität anwesender Verbindungen zu.

Nach Untersuchungen von SCHAAL (37) vermag *Streptomyces scabies* bei einer Reaktion des Substrates von pH 5 befriedigend zu wachsen. Ergebnisse mit zehn geographisch verschiedenen Herkünften ließen gleichzeitig eine rassenbedingte Reaktionsempfindlichkeit erkennen.

Eigene Untersuchungen:

In eigenen Versuchen sollte zunächst geprüft werden, ob bei den vorliegenden Herkünften Rassen zu finden sind, die, wie WINGERBERG (66) beobachtet hat, bei niedrigen pH-Werten zu wachsen in der Lage sind, d. h. die von SANFORD (35) angegebene Variationsbreite der Sporenkeimung wesentlich unterschreiten.

Versuchsmethodik:

Zusammensetzung des Nährbodens:

$NaNO_3$	2 g
K_2HPO_4	1 g
$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$	0,5 g
KCl	0,5 g
$FeSO_4$	0,01 g
Glukose	30 g
Agar	20 g
Aqua dest.	1000 ccm

Die entsprechenden pH-Werte wurden nach der letzten Sterilisation kurz vor dem Ausgießen des Nährbodens in Petrischalen mit Hilfe eines Komparators nach MICHAELIS und nach HELLIGE mit H_3PO_4 bzw. KOH eingestellt. Die Reaktion der Nährböden betrug pH 4, 4,5, 5 und 7. Die Petrischalen wurden an zwei Stellen mit einer Sporensuspension beimpft und bei

27 ° C bebrütet. Die Auswertung erfolgte qualitativ nach zehn bis zwölf Tagen. In vier aufeinanderfolgenden Versuchsreihen wurden insgesamt 64 Herkünfte und Einzelsporsubkulturen auf ihre Wachstumsfähigkeit auf den obengenannten Medien geprüft.

In keinem Falle konnten die Ergebnisse von WINGERBERG (66) bestätigt werden. Das Wachstum begann bei fast allen Herkünften um pH 5. In einzelnen Fällen waren deutliche Unterschiede in der Entwicklung festzustellen.

In einem Hauptversuch wurde die Reaktion von zehn Erregerherkünften, die auf Grund der Ergebnisse der Vorprüfungen ausgewählt wurden, auf Medien mit verschiedenen pH-Werten untersucht. Die Versuchsanordnung entsprach der oben erwähnten. Die Einstellung der Reaktion nach der letzten Sterilisation erfolgte mit 10 % H_3PO_4 und n/10 KOH auf folgende Werte: 4,8, 5,0, 5,2, 5,4, 5,6, 6,0, 7,0. Die entsprechenden Messungen wurden elektrometrisch in H_2O mit einer Chinhydronelektrode durchgeführt. Die Nährböden wurden zu etwa 15 ccm in Platten gegossen und an zwei Stellen mit einer Sporensuspension eines gleich alten und unter gleichen Bedingungen gewachsenen Erregermaterials beimpft.

Tabelle 15

Durchschnittliche Koloniengrößen (in mm) von zehn Herkünften von *Streptomyces scabies* in Abhängigkeit von der Reaktion des Nährmediums nach 15tägiger Kulturzeit

Nr. der Isolierung	Reaktion der Nährböden						
	4,8	5	5,2	5,4	5,6	6	7
E_2 39	—	9,9	11,08	12,3	13,6	11,2	11,8
E_2 236	—	9,3	11,—	11,5	12,1	10,5	11,8
E_2 122	—	1,0	3,5	7,1	7,4	7,–	11,3
E_3 171	—	3,6	7,4	7,8	8,1	8,3	8,3
E_4 23	—	10,8	10,5	13,3	12,5	12,1	10,1
E_3 94	—	1,8	6,0	6,3	7,0	7,7	8,0
E_4 211	—	11,8	11,5	11,7	12,4	10,2	9,5
16	—	—	1,5	4,7	7,3	7,3	9,3
E_1 90	—	8,08	12,—	12,—	12,8	13,1	12,5
E_5 182	–	4,2	9,7	9,7	11,8	12,5	12,7

Die erste Beurteilung erfolgte nach sechs Tagen, wobei auf pH 4,8 in keinem Falle Wachstum festzustellen war. Von den zehn verwendeten Herkünften wuchsen fünf Herkünfte auf pH 5, davon zwei stark, sieben Herkünfte auf pH 5,2 und neun Herkünfte auf pH 5,4. Auf pH 6 und pH 7 war bei allen Kulturen in jeder Wiederholung starkes Wachstum zu beobachten.

Eine quantitative Auswertung erfolgte erstmalig nach 15tägiger Kulturzeit, wobei einzelne Herkünfte eine unterschiedliche Empfindlichkeit gegenüber der Reaktion des Substrates erkennen ließen. Tabelle 15 und Abb. 14 geben einen Überblick über das Wachstum der zehn untersuchten Herkünfte

von *Streptomyces scabies*. Weder die Ergebnisse von WINGERBERG (66) noch die von SANFORD (35) konnten Bestätigung finden. Das Keim- und Wachstumsminimum muß zwischen pH 4,8 und pH 5 liegen. Der größte Teil der Herkünfte zeigte bereits bei pH 5 gutes Wachstum. Es konnten aber Rassen nachgewiesen werden, die auf niedrigere pH-Werte empfindlich reagierten,

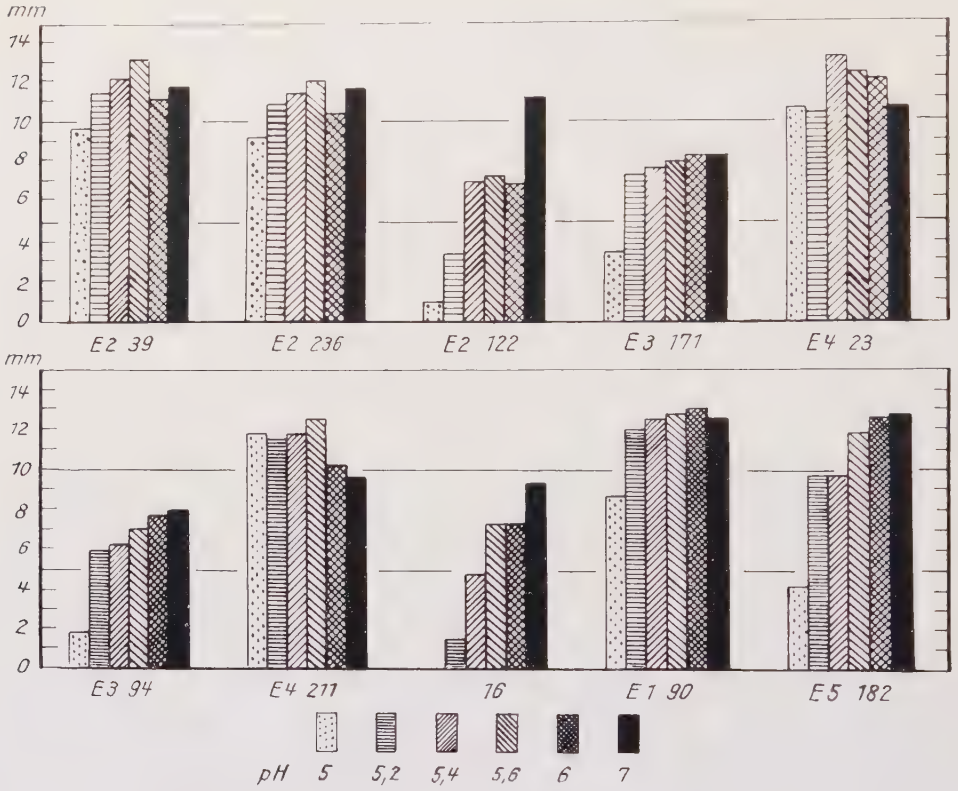


Abb. 14. Wachstum von zehn Herkünften von *Streptomyces scabies* in Abhängigkeit von der Reaktion des Mediums

wobei die Keimdauer verlängert wurde und die Zuwachsraten geringer blieben. Diese Reaktionen können in Einzelfällen von praktischer Bedeutung sein. Die Rassen „E_2 122", „E_3 94", „E_5 182" und „16" lassen sich in einem pH-bereich von 5 bis 5,4 noch deutlich unterscheiden, oberhalb von 5,6 verwischen sich die Unterschiede.

Die Ergebnisse der Vorversuche stimmten mit denen des Hauptversuches bis auf das Verhalten von Herkunft „16" überein. Diese wuchs bereits in der Vorprüfung bei pH 5.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß es möglich war, im Rahmen der Prüfung von 64 Herkünften physiologische Rassen zu finden, die sich in ihren Ansprüchen an die Reaktion des Nährmediums deutlich voneinander unterschieden.

C. Untersuchungen zur Pathogenität von *Streptomyces scabies*

In den vorangegangenen Untersuchungen konnte der Nachweis erbracht werden, daß sich der Erreger des Kartoffelschorfes in eine Reihe von physiologischen Rassen aufgliedert, die sich auf Grund verschiedener chemisch-physikalischer Reaktionen voneinander unterscheiden lassen. Diese Tatsache erlangt jedoch erst dann praktisches Interesse, wenn der Nachweis über deutliche Virulenzunterschiede zwischen einzelnen Herkünften vorliegt. Ziel der folgenden Arbeit war es daher, an Hand des vorliegenden Erregermaterials der Frage nach parasitären Rassen nachzugehen, ferner eine Infektionsmethode unter Berücksichtigung der besonderen Verhältnisse beim Kartoffelschorf zu finden und schließlich praktische Hinweise zur Verbesserung der resistenzzüchterischen Arbeiten zu geben. Untersuchungen zu dieser Fragestellung sind weit schwieriger als reine Laborversuche und werden beim Kartoffelschorf noch durch eine Reihe von Voraussetzungen kompliziert, die für derartige Untersuchungen erfüllt sein müssen. Die Tatsache nämlich, daß der Kartoffelschorf eine Krankheit der wachsenden Knolle ist und nach Ergebnissen von Fellows (8) in seinem Ausmaß in direkter Korrelation zur Intensität des Wachstums steht, macht es erforderlich, Methoden der künstlichen Infektion zu schaffen, die es gestatten, unter natürlichsten Bedingungen zu arbeiten.

Es soll an dieser Stelle ein Überblick über die von den einzelnen Autoren angeführten Infektionsmethoden gegeben werden.

Die ersten Infektionsversuche mit *Streptomyces scabies* gehen auf Thaxter (61) zurück, der durch ein einfaches Überimpfen von Mycelien aus Krankheitsherden (Schorfpusteln) auf gesunde, wachsende Knollen Erfolge erzielen konnte.

Wollenweber (67) unternahm Impfversuche an ausgereiften und von der Pflanze getrennten Knollen im unbeschädigten und verletzten Zustand, wodurch nach seinen Angaben eine Auslösung der Krankheit möglich wurde. Ferner erfolgten Infektionen an im Feldbestand freigelegten Knollen und durch Begießen von Kartoffelstauden mit Sporensuspensionen.

Fellows (8) konstruierte eine besondere Infektionsapparatur, die eine gute Verseuchung des Bodens während der Vegetationszeit ermöglichte, und erzielte damit ohne Berührung oder Störung der Knollen gute Erfolge. In späterer Zeit wurde von fast allen Untersuchern künstlich infizierte Erde benutzt, die vorher unter hohem Druck eine längere Zeit sterilisiert worden war. Jermoljev und Sethofer (19) pflanzten nach erfolgter Infektion in künstlich infizierter Erde die einzelnen Stauden auf das Feld (Labor-Feldmethode).

Es hat nicht an Versuchen gefehlt, einfachere und exaktere Methoden der künstlichen Infektion zu erarbeiten. Sie scheiterten aber meist an den Besonderheiten der Kartoffel, durch die sie sich gegenüber anderen Kulturpflanzen auszeichnet.

Für die eigenen Untersuchungen über die Bestimmung des Pathogenitätsgrades verschiedener Herkünfte von *Streptomyces scabies* konnte auf reine Feldinfektionen im Sinne Wollenweber nicht zurückgegriffen werden. Die Infektion an ausgereiften Knollen entfiel gleichfalls, denn alle von der Pflanze losgelösten Knollen erzeugen bei künstlicher Infektion selbst nach vorangegangener Verwundung verschiedenster Art und Weise keinen typischen Schorf, sondern zeigen unter dem Einfluß des Erregers abgewandelte, mehr

oder weniger starke Wundkorkreaktionen. Eine solche Reaktion kann, wie es WOLLENWEBER versucht hat, mit dem wirklichen Krankheitsbild in keine Beziehung gebracht werden. NOLL (33) konnte die Befunde von WOLLENWEBER gleichfalls nicht bestätigen.

Von der Durchführung von Gewächshausinfektionen in sterilisierter Erde wurde Abstand genommen, da aus technischen Gründen zur Zeit der Versuchsdurchführung eine einwandfreie Bodensterilisation nicht möglich war. Die Verwendung unvollkommen sterilisierter Erde kann zu Fehlschlägen führen. So berichtet WINGERBERG (66) über das Ausfaulen ganzer Versuchsserien bzw. starken Befall durch *Rhizoctonia solani*. Es ergab sich daher die Notwendigkeit, die Untersuchungen zur Pathogenität von *Streptomyces scabies* auf anderen Wegen durchzuführen.

a) Infektionsversuche mit „L-Töpfen"

Bei seinen Untersuchungen über die Beziehung zwischen Knollenwachstum und Ausbildung des Kartoffelschorfes verwendete HOOKER (15) eine Methode, die sich nach Abänderung auch für die angegebenen Verhältnisse als brauchbar erwies. KLINKOWSKI und HOFFMANN (23) haben in einer kurzen Mitteilung diese Methode für Schorfresistenzprüfungen und ähnliche Fragestellungen empfohlen. Die Einzelheiten der Versuchsanordnung werden nachstehend noch einmal näher erläutert.

Gut ausgebildete, mittelgroße und unbeschädigte Kartoffelknollen, die frei von Krankheiten (Schorf, Rhizoctonia, *Phytophthora infestans* usw.) waren, wurden 30 Minuten in eine 0,1 %ige Sublimatlösung getaucht. Nach anschließendem gründlichem Waschen in Leitungswasser wurden die Knollen in einer Tiefe von etwa 10 cm in 16-cm-Blumentöpfe in sterilen Quarzsand gepflanzt. Das Tiefpflanzen wurde deshalb vorgenommen, um einen langen, etiolierten Sproß zu erhalten. Andere Keimmedien als Quarzsand sind ungünstig. Erde würde den unterirdischen Teilen zu stark anhaften, grober Kies oder Bausand die Auflaufzeit der Triebe verzögern. Während des Auflaufens wurde für mäßige Feuchtigkeit gesorgt und der Sand öfters aufgelockert. Nach dem Erscheinen der Keime erfolgte das Umtopfen. Dabei wurden alle Triebe bis auf den stärksten entfernt, der nur ungefähr ein Drittel der Gesamtknolle als vorläufige Nahrungsquelle behielt. Bei der Anzucht wurde zum Teil auch von Augenstecklingen ausgegangen. Der Knollenertrag blieb dann aber nur gering.

Die Pflanzen kamen in einen 20 cm breiten Blumentopf, der an einer Seite eine 6 cm große Öffnung besaß und umgekehrt auf einer Glas- oder Tonschale stand. Der Topf wurde bis ungefähr 3 cm unterhalb des Seitenloches mit sterilem, angefeuchtetem Quarzsand gefüllt, worauf der vorgekeimte Trieb von der Seite her in das Topfinnere eingeführt und in den Sand leicht eingedrückt wurde. Ein tiefes Eingraben des Knollenstückes ist nachteilig, da sich später Stolonen und Knollen innerhalb des Sandes entwickeln und dadurch der Beobachtung entgehen. Die Sproßspitze wurde beim Einführen der Pflanze vorsichtig durch das im Topfboden befindliche Loch gezogen. Die Abb. 15 zeigt schematisch Form und Größe des verwendeten Infektionsstopfes.

Zur Erzielung der notwendigen Luftfeuchtigkeit im Topfinnern wurde die Außenwand mit einem angefeuchteten Torf-Lehm-Gemisch, bestehend aus zwei Drittel Torf und einem Drittel Lehm, umkleidet und das Seitenloch mit einem konisch gedrehten Buchenholzstopfen verschlossen. Eine Umkleidung mit reinem Lehm oder Rasenschollen erwies sich als ungünstig, da der Lehm zu rasch abtrocknete und der Rasen stark zur Verpilzung neigte. Es erwies sich ferner als zweckmäßig, alle virusinfizierten Pflanzen von der weiteren Verwendung

auszuschließen, da Knollenbildung und Wachstum stark beeinträchtigt wurden. Außerdem ist bisher noch nicht näher untersucht worden, ob virusinfizierte Kartoffeln in ihrem Verhalten gegen Kartoffelschorferreger anders reagieren als gesunde Knollen der gleichen Sorte.

In den ersten drei Wochen wurden die Pflanzen durch das Seitenloch zweimal wöchentlich mit 150 ccm folgender Nährlösung versorgt:

$Ca(NO_3)_2$	0,8 g
KNO_3	0,3 g
NH_4NO_3	0,08 g
K_2HPO_4	0,17 g
$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$ ..	0,2 g
NaCl	0,1 g
Aqua dest.	1000 ccm

Nach beginnender Knollenbildung erfolgte die Nährstoffzufuhr nur einmal wöchentlich, und nach drei weiteren Tagen wurde mit Leitungswasser gegossen. Die Torf-Lehm-Umkleidung mußte im Gewächshaus täglich zwei- bis dreimal gut angefeuchtet werden. Die Entwicklung war in den Frühjahrs- und Vorsommermonaten durchaus normal. Abb. 16 zeigt einen Infektionstopf mit einer Pflanze der Sorte Aquila.

Mit Hilfe der angegebenen Methode wurden zunächst acht verschiedene Herkünfte von *Streptomyces scabies* und zwei *Streptomyces* sp. auf ihre Pathogenität geprüft. Als Testsorte diente die anfällige Sorte Bintje. Die Anzucht des Infektionsmaterials wurde auf Kartoffeldextrose vorgenommen, worauf von allen Herkünften reichlich Luftsporen gebildet wurden.

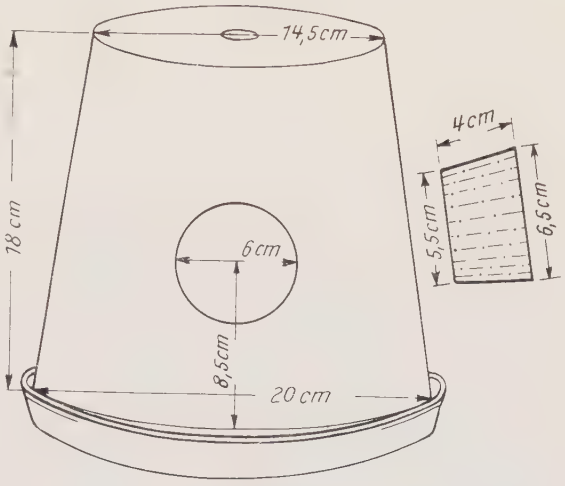


Abb. 15. Schematische Darstellung des Infektionstopfes

Abb. 16. Infektionstopf mit einer Pflanze der Sorte Aquila, zehn Wochen nach Auslegen der Knollen

Die Infektion erfolgte unter Benutzung eines einfachen Glaszerstäubers, mit dessen Hilfe nach der Entfernung des seitlichen Buchenholzstopfens eine konzentrierte Sporensuspension auf die unterirdischen Organe gleichmäßig verteilt werden konnte. Die größten Knollen hatten zum Zeitpunkt der Infektion einen Durchmesser von 3 cm und blieben während der ganzen Zeit mechanisch unbeschädigt. Eine Vermischung der einzelnen Erregerherkünfte wurde durch besondere Vorsichtsmaßnahmen zu verhindern versucht (Desinfektion der Hände, des Arbeitsplatzes und der Geräte).

Die ersten Symptome wurden bereits nach sieben- bis zehntägiger Inkubationszeit sichtbar. Während dieser Zeit zeigten die oberirdischen Teile der Pflanzen keine Veränderungen.

Tabelle 16

Ergebnisse von Infektionsversuchen mit acht Herkünften von *Streptomyces scabies* und zwei *Streptomyces* sp. auf Sorte Bintje

Nr. der Isolierung	Herkunftsort	Herkunftssorte	Schorftyp der Herkunftssorte	Infektionsergebnis		
				Knollenzahl	davon befallen	Schorftyp
E_1 6	Bernburg	Ackersegen	rissiger Flachschorf	8	—	etwas rauhschalig
E_1 11	Stegelitz Kr. Jerichow	—[1])		7	4	mittlerer Flachschorf
E_1 44	Lostan Kr. Jerichow	Ackersegen	gürtelartiger Flachschorf	9	5	mittlerer Tiefschorf
E_1 127	Hohenfichte Kr. Flöha	Sieglinde	schwerer Tiefschorf	9	7	Flachschorf
E_1 150	Nossen Kr. Meißen	Aquila	Flachschorf	13	4	mittlerer Tiefschorf
E_1 159	Uesen bei Bremen	Bona	Flachschorf	12	12	rissiger Tiefschorf
E_1 161	Klosterdorf Kr. Oberbarn.	Ackersegen	Tiefschorf	11	6	schwerer Tiefschorf
E_1 171	Passow Kr. Angermünde	Ackersegen	leichter Flachschorf	10	6	schwerer Tiefschorf
E_1 182	Waßmannsdorf Kr. Teltow	Merkur	Tiefschorf	12	8	schwerer Tiefschorf
E_1 197	Muglitz/Rügen	Voran	Flachschorf	10	—	etwas rauhschalig

[1]) Aus einer Bodenprobe isoliert.

In Tabelle 16 sind die Ergebnisse der Pathogenitätsprüfungen mit zehn Isolierungen zusammengestellt.

Von den geprüften zehn Isolierungen erwiesen sich acht als hochgradig virulent. In fast allen Fällen wurde Tiefschorf gebildet, trotzdem auch Erreger beteiligt waren, die aus Flachschorfpusteln isoliert wurden. Die Knollen waren zum größten Teil schwer angegriffen, wobei vereinzelt starke Luft-

mycelbildung beobachtet wurde. Abb. 17 bringt einen Blick in einen Infektionstopf nach erfolgter Symptomausbildung.

Die Kontrollen zeigten keine Spuren einer Infektion, trotzdem sie unmittelbar neben den Infektionstöpfen gestanden hatten. Gleiches gilt für die Herkünfte „E_1 6" und „E_1 197". Die nichtinfizierten und mit avirulenten Stämmen besprühten Knollen zeigten Neigung zu geringer Rauhschaligkeit, die in diesem Falle keine Sorteneigentümlichkeit darstellt, sondern wahrscheinlich durch die freie Lage der Knollen gefördert wurde. Bei den infizierten Knollen war nur bei den kleineren eine Verteilung des Schorfes über die ganze Oberfläche zu beobachten. Bei größeren Knollen waren meist nur die apikalen Gewebepartien infiziert, die wahrscheinlich in dem morphologisch und physiologisch geeigneten Stadium der Infektionsbereitschaft waren.

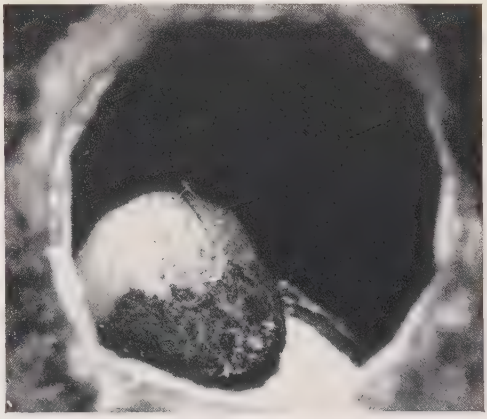


Abb. 17. Infektionserfolg durch *Streptomyces scabies* (Stamm E_1 159) an der Sorte Bintje

Die Beziehung zwischen morphologischer Entwicklung der Knollen und deren Infektionsbereitschaft gegenüber *Streptomyces scabies* ist von Fellows (8) eingehend untersucht worden. Er stellte fest, daß von einem bestimmten Entwicklungsstadium ab, wo die ganze Oberfläche von einem Korkgewebe bedeckt ist, eine Infektion nicht mehr zum Haften kommt. Die künstliche Infektion ist daher möglichst früh nach dem Erscheinen der ersten Knollen vorzunehmen, wie es in den vorliegenden Versuchen geschah. Die sehr kurze Dauer der Inkubationszeit von sieben bis zehn Tagen ist ein großer Vorteil der Methode, die die Versuchsdauer wesentlich abkürzt. Wenn man lediglich über die Resistenz oder Anfälligkeit entscheiden will, kann bereits wenige Tage nach der Infektion der Versuch abgebrochen werden. Es empfiehlt sich nur, die Ausbildung der einzelnen Schorftypen abzuwarten, welche für die Beurteilung der Resistenz bzw. Anfälligkeit wahrscheinlich nicht unwesentlich sind. Nach etwa 20 Tagen waren bei meinen Infektionsversuchen die Befallstypen deutlich zu unterscheiden.

Alle in dem vorliegenden Infektionsversuch als pathogen erkannten Formen bildeten auf Magermilch unter Braunfärbung des Mediums einen braunen Oberflächenring und erwiesen sich auch in Erdagarkulturen an Sojabohnen als aggressiv. Damit ist die Gültigkeit des Milchtestes nach Taylor und Decker (60) und des Sojabohnentestes nach Hooker (14) auch unter deutschen Verhältnissen erwiesen. Die avirulenten Herkünfte „E_1 6" und „E_1 197" zeigten auf Milch ein anderes Verhalten und vermochten auch Sojabohnen nicht anzugreifen. Alle in diesem Versuch als virulent erkannten Herkünfte konnten systematisch zu *Streptomyces scabies* gestellt werden.

In einem weiteren Infektionsversuch sollte der Frage nachgegangen werden, ob auch andere *Streptomyces*-Arten in der Lage sind, Kartoffelschorf zu erzeugen.

b) Infektionsversuche mit verschiedenen *Streptomyces*-Arten

Die Versuchsanordnung entsprach der oben dargestellten. Als Testsorte kam gleichfalls die Sorte Bintje zur Verwendung. Jede Herkunft wurde in zweifacher Wiederholung geprüft. Die erste Infektion erfolgte am 22. Mai 1951. Nach achttägiger Versuchszeit hatte sich in keinem Falle eine Schorfbildung gezeigt, wie sie bei der Verwendung von Herkünften von *Streptomyces scabies* bereits nach sechs Tagen beobachtet werden konnte. Daher wurde 14 Tage nach der ersten Infektion eine zweite durchgeführt. Auch diese blieb ohne sichtbaren Erfolg. Einzelne Verbräunungen der Knollenoberfläche hatten anscheinend andere Ursachen, da Reisolierungen zu keinem Erfolg führten. Es konnte bei keinem der benutzten Herkünfte an der hochanfälligen Sorte Bintje die Bildung von Schorf nachgewiesen werden.

Tabelle 17
Charakteristik der zur Infektion benutzten *Streptomyces*-Arten

Nr. der Isolierung	Herkunftssorte	Schorftyp der Herkunftssorte	Luftmycelfarbe auf Kartoffeldextroseagar	Substratfärbung
60	Capella	F	hellrosa	—
76	Ackersegen	F	grüngrau	violett
92	Aquila	F	hellgrau	blau
100	Sieglinde	T	weiß	—
103	Frühnudel	F	hellgrau	dunkelbraun
144	Capella	T	grüngrau	—
156	Heida	F	grüngrau	—
158	Flava	F	goldgelb	—
168	Ackersegen	T	rotviolett	braunrot
176	Ackersegen	T	weiß	—
229	Capella	T	hellrosa	—
243	Flava	F	hellgrau	rotbraun

Zeichenerklärung: F = Flachschorf T = Tiefschorf

Tabelle 17 gibt einen Überblick über die zur Infektion benutzten *Streptomyces*-Arten. Eine Artbestimmung erfolgte nicht. Auf Grund ihres unterschiedlichen Erscheinungsbildes ist jedoch anzunehmen, daß es sich um verschiedene Spezies handelte. Es kann damit noch kein abschließendes Urteil gegeben werden, ob verschiedene Arten der Gattung *Streptomyces* zur Schorfbildung befähigt sind oder nicht. Dieser Frage soll in späteren Untersuchungen an Hand eines großen Materials nachgegangen werden.

c) Infektionsversuche im Gewächshaus

In einem weiteren Versuch sollte die Pathogenität verschiedener Herkünfte von *Streptomyces scabies* an zehn Kartoffelsorten geprüft werden, die nach den Ergebnissen von Hey (11) eine unterschiedliche Resistenz besitzen. Gleichzeitig sollten Beobachtungen über das Verhalten einzelner Sorten gegenüber verschiedenen Erregerherkünften durchgeführt werden, um ihre Eignung für die Zusammenstellung eines Testsortimentes festzustellen. Die Versuchsanordnung entsprach den vorangegangenen Untersuchungen. Der Ansatz der Lochtöpfe erfolgte am 20. Juni 1951. Die Bereitstellung virusfreien, sortenechten Pflanzgutes verdanke ich dem Institut für Pflanzenzüchtung Groß-Lüsewitz. Folgende Sorten wurden mit je 35 Töpfen in den Versuch einbezogen: Frühnudel, Frühmölle, Mittelfrühe, Aquila, Johanna, Voran, Ackersegen, Sirius, Merkur und Wega.

Die Entwicklung der Pflanzen verlief leider nicht im gewünschten Sinne. Es entstanden, wahrscheinlich auf Grund ungünstiger Licht- und Temperaturverhältnisse, etiolierte Stengel mit mäßiger Blattentwicklung. Die Pflanzen gingen sehr rasch in die reproduktive Phase über, bildeten aber nur langsam und verzögert Stolonen und Knollen. Die durchgeführten Infektionen mit neun verschiedenen Herkünften von *Streptomyces scabies* ergaben ein negatives Ergebnis. Es ist anzunehmen, daß auf Grund des veränderten morphologischen und physiologischen Zustandes der Knollen die Infektion negativ ausfiel. Somit erweist sich die Zeit ab Mitte Juni für Gewächshausversuche dieser Art als ungünstig.

d) Infektionsversuche mit kleinen „L-Töpfen"

Die vorstehenden Infektionsversuche wurden am Institut für Pflanzenzüchtung Bernburg (Saale) durchgeführt. Die Weiterführung dieser Untersuchungen erfolgte an der Biologischen Zentralanstalt der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin, Institut für Phytopathologie Aschersleben. Aus räumlichen Gründen konnten die Versuche nicht im gewünschten Ausmaß weitergeführt werden. Es wurde daher nach einer Verbesserung der Methode bei gleichzeitigem Einsparen von Gewächshausplatz gesucht, womit für die Anwendung der Methode in Zuchtbetrieben ohne weiteres ein Vorteil verbunden wäre. Das bisher benutzte Verfahren wurde daher in folgenden Punkten abgeändert:

In 12-cm-Blumentöpfe wurde ein 3 cm großes seitliches Loch gebohrt. Die Töpfe wurden mit der durchlochten Seite nach außen in zwei Reihen gegeneinander in Pikierkästen gestellt, die unten eine schwache Schicht groben Quarzsandes enthielten, worüber eine etwa 5 cm starke Schicht sterilen Quarzsandes gebracht wurde. Vorgekeimte Augenstecklinge wurden so in die Töpfe eingeführt, daß der Trieb durch das Bodenloch wuchs, das Knollenstück aber nur flach in dem Quarzsand steckte. Der Verschluß des seitlichen Loches erfolgte durch einen festen Wattestopfen. Das Äußere des Topfes wurde ebenfalls mit einem Torf-Lehm-Gemisch umgeben. Die notwendige Feuchtigkeit konnte durch häufiges Gießen des Sandes erreicht werden, die Versorgung mit Nährlösung erfolgte nach Entfernen des Wattestopfens.

Die Eignung dieses Verfahrens wurde an folgenden zehn Sorten geprüft: Frühmölle, Frühnudel, Frühbote, Johanna, Mittelfrühe, Merkur, Ackersegen, Aquila, Voran und Capella.

Die Sorten entwickelten sich alle unter Gewächshausverhältnissen gut. Die Ausbildung von Stolonen und Knollen war in dieser Versuchsanordnung bei keiner Sorte exakt zu überwachen, da der im Topf frei bleibende Raum zu gering war. Die Stolonen wuchsen in die Sandschicht hinein, und der Vorgang der Knollenbildung entzog sich damit der Beobachtung. Das Freilegen dieser Pflanzenteile verlief nicht ohne Beschädigung derselben, so daß eine einwandfreie Infektion nicht mehr gewährleistet war. Trotzdem wurde in Einzelfällen eine Infektion mit zehn Herkünften von *Streptomyces scabies* vorgenommen und festgestellt, daß alle benutzten Herkünfte noch ihre Pathogenität besaßen. In Abb. 18 ist der Infektionserfolg bei der Sorte Aquila durch Herkunft „E_3 95" dargestellt.

Abb. 18. Infektionen an Knollen der Sorte Aquila durch *Streptomyces scabies* (Stamm E_3 95)

e) Infektionsversuche im Frühbeet

Ein zweiter Versuch mit zehn Sorten entsprechend der auf S. 260 beschriebenen Gewächshausmethode wurde im Frühbeet aufgestellt. Die Infektion konnte nur an der sehr intensiv und schnell knollenbildenden Sorte Frühbote durchgeführt werden. Alle anderen Sorten bildeten auf Grund sehr trockener Witterungsverhältnisse nur sehr wenige, kleine Knollen, weshalb eine Auswertung der Ergebnisse nicht möglich war.

Über die Ergebnisse der Infektion an der Sorte Frühbote gibt Tabelle 18 Auskunft. Die Zahlen setzen sich aus der Summe der Ergebnisse von je drei Infektionstöpfen zusammen. Die Infektion erfolgte zweimal mit einem elftägigen Zwischenraum. Das Auftreten der ersten Symptome war bei stark aggressiven Rassen („E_4 44", „E_3 124", „E_3 95") bereits nach sieben Tagen zu beobachten. Bei acht Herkünften konnte die Pathogenität mit Sicherheit nachgewiesen werden. Die einzelnen Isolierungen erwiesen eine sehr unterschiedliche Virulenz. Am stärksten pathogen waren die Herkünfte „E_4 44" mit einer sehr raschen und kräftigen Symptomausprägung, sowie „E_3 95" und „E_3 124". Die letzten beiden Herkünfte neigten zu Tiefschorfbildung. Die übrigen konnten unter den gegebenen Verhältnissen nur Flachschorf verursachen, woraus keinesfalls geschlossen werden kann, daß sie unter anderen Bedingungen nicht zur Erzeugung eines anderen Krankheitsbildes befähigt

wären. Ein Vergleich mit der Virulenz auf den übrigen Sorten konnte leider aus den oben angeführten Gründen nicht erfolgen.

Tabelle 18

Infektionsergebnisse an der Sorte Frühbote durch neun verschiedene Herkünfte von *Streptomyces scabies*

Nr. der Isolierung	Herkunftssorte	Schorftyp der Herkunftssorte	Zahl d. Knollen	davon befallen	Befallsgrad	Schorftyp
E_4 23	Aquila	Tiefschorf	12	9	2	Flachschorf
E_4 44	Ackersegen	Flachschorf	19	17	3 – 4	Flachschorf
E_3 94	Ackersegen	Tiefschorf	14	6	2	Flachschorf
E_3 95	Johanna	Flachschorf	28	17	3 – 4	Flach- u. Tiefschorf
E_3 124	Aquila	Flachschorf	24	19	3 – 4	Flach- u. Tiefschorf
E_1 127	Sieglinde	Tiefschorf	14	6	1	leichter Flachschorf
E_1 130	Frühmölle	Flachschorf	16	11	2	Flachschorf
E_3 161	Ackersegen	Tiefschorf	14	4	3	Flach- u. Tiefschorf
E_2 236	Mittelfrühe	Tiefschorf	29	15	3	Flachschorf
Kontrolle			19	2	1	2 Kn. leichter Flachschorf

Zeichenerklärung: Befallsgrad 1 = gering
2 = mittel
3 = stark
4 = sehr stark

f) Infektionsversuche im Freiland

Resistenzprüfungen unter Feldbedingungen haben den großen Vorteil, daß die Pflanzen unter natürlichen Umweltverhältnissen aufwachsen können, ein Umstand, den man im Gewächshaus nur in seltenen Fällen realisieren kann. Es sollte daher versucht werden, die Vorteile des Lochtopfverfahrens mit dieser positiven Seite des Feldversuches zu verbinden und unter diesen Bedingungen eine Rassenanalyse auf einem Testsortiment durchzuführen.

Zur Klärung dieser Frage wurde folgender Versuch durchgeführt:

Auf einem für Kartoffeln vorbereiteten und in üblicher Weise mit Stallmist und Handelsdünger gedüngten Feld wurden 5 cm tiefe und 25 cm breite Gräben ausgehoben, die zu zweit mit 30 cm Abstand nebeneinanderlagen. Das nächste Grabenpaar folgte im Abstand von 50 bis 60 cm. In diese Gräben wurden nebeneinander die bereits beschriebenen Lochtöpfe gestellt, und zwar so, daß die undurchlochten Seiten gegeneinanderstanden. Die Töpfe wurden in der üblichen Weise mit im Gewächshaus in Quarzsand vorgekeimten Kartoffeln beschickt, die seitliche Öffnung mit einem Buchenholzstopfen verschlossen und anschließend wie beim Anhäufeln normaler Kartoffeln mit Erde umgeben. Abb. 19 zeigt einen Teil der Versuchsanlage 14 Tage nach dem Auspflanzen. Die Entwicklung der Pflanzen vollzog sich rasch. In wenigen Tagen hatten alle Pflanzen einen kräftigen Sproß und ein

Abb. 19. Teil der Versuchsanlage mit „L-Töpfen", 14 Tage nach dem Auspflanzen

Abb. 20. Teil der Versuchsanlage zur Zeit der Kartoffelblüte

starkes Wurzelsystem gebildet. Trotz ungünstiger Witterung — der Vorsommer war teilweise recht trocken — bildeten die Pflanzen einen dichten Bestand. Abb. 20 zeigt einen Teil des Versuches zur Zeit der Blüte.

Folgende Sorten kamen zur Verwendung: Frühnudel, Frühmölle, Frühbote, Johanna, Aquila, Merkur, Voran, Ackersegen, Sirius und Immertreu. Das Pflanzgut stellte das Institut für Pflanzenzüchtung in Groß-Lüsewitz freundlicherweise zur Verfügung. Jede Sorte wurde mit 20 Töpfen angesetzt,

Tabelle 19

Schematische Übersicht über die Pathogenität von acht Herkünften von *Streptomyces scabies* auf neun Kartoffelsoren

Nr. der Isolierg.	Frühbote	Frühmölle	Frühnudel	Johanna	Immertreu	Merkur	Ackersegen	Sirius	Voran
E_4 23	+++	++	—	++	++	++	—	—	++
E_4 44	++	++	+	++	++	+++	—	++	++
E_3 94	+++	+++	+++	++	++++	++	++++	+++	++
E_3 95	++++	+	—	++	—	—	—	ausgefallen	+++
E_1 127	++	+	—	+	+	+	—	+++	++
E_1 130	++	+	+	+	++	+++	+++	++	+
E_3 161	++	+	—	+	+++	ausgefallen	—	+++	+
E_2 236	+++	+	+	++++	++	+++	+++	+++	++
Zahl der path. Erreger	8	8	4	8	7	6	3	6	8

Zeichenerklärung: Pathogenität entsprechend dem Befallsgrad (siehe Tabelle 20)

++++	sehr stark	= 3 und darüber
+++	stark	= 2,5 bis 2,9
++	mittel	= 2 bis 2,4
+	gering	= 1,5 bis 2
—	nicht befallen	

wovon 16 mit acht verschiedenen Isolierungen von *Streptomyces scabies* in zweifacher Wiederholung infiziert wurden. Die Infektion erfolgte bei allen Sorten gleichzeitig, da sich die Knollenbildung ungefähr zu gleicher Zeit vollzog. Alle Pflanzen hatten zu dieser Zeit reichlich Knollen ausgebildet, worin die Frühsorten den Spätsorten etwas voraus waren. Die Infektion wurde nach Freilegen des Holzstopfens durch das seitliche Loch mit Hilfe einer einfachen Zerstäuberspritze durchgeführt. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tabelle 19 in einer schematischen Übersicht zusammengestellt. Die genaueren Zahlenangaben sind der Tabelle 20 zu entnehmen. Wie die Ergebnisse zeigen, verhalten sich die einzelnen Erregerherkünfte auf den verwendeten Kartoffelsorten sehr unterschiedlich. Wenn man von gewissen Schwankungen absieht, so wird ersichtlich, daß sich einzelne Herkünfte durch eine hohe Aggressivität auszeichnen. Das ist z. B. bei „E_3 94" der Fall, die bei mehreren Sorten zu schweren Schädigungen Anlaß gab. Gleiches gilt auch für „E_2 236". Eine geringe Pathogenität zeigte „E_1 127", die nur die Sorte Sirius in stärkerem Maße anzugreifen vermochte.

Neben den Unterschieden im Verhalten der Erregerherkünfte traten deutliche Differenzen hinsichtlich der Anfälligkeit einzelner Sorten auf. In der Tabelle 20 ist die Anzahl der auf den Sorten pathogenen Herkünfte zu finden. Auf Frühbote, Frühmölle, Johanna und Voran waren alle geprüften Herkünfte pathogen, die Sorten Immertreu, Merkur und Sirius wurden von sieben bzw. acht, Ackersegen und Frühnudel von drei bzw. vier Erregerherkünften befallen. Die beiden Sorten zeichneten sich in ihrer Anfälligkeit gegen die verwendeten Herkünfte des Kartoffelschorferregers von den übrigen deutlich ab.

Es kann sich hier kaum um einen Zufall handeln, daß beide Sorten hinsichtlich ihres Resistenzverhaltens nach den Ergebnissen von Hey (11) aus Feldprüfungen in der gleichen Gruppe der „ziemlich widerstandsfähigen" zu finden sind. Auch in diesem Versuch erwiesen sich die beiden Sorten wesentlich resistenter als die übrigen.

In diesem Zusammenhang ist bemerkenswert, daß sich nach unseren Beobachtungen die geringe Neigung der Sorten Ackersegen und Frühnudel zur Schorfbildung nicht darin äußert, daß sich bei allen Erregerherkünften nur geringfügige Symptome ausbilden, sondern daß diese Sorten nur einzelnen Herkünften gegenüber widerstandsfähig sind. Die Herkünfte, die Ackersegen und Frühnudel infizierten, gehörten auch bei den übrigen Sorten gleichzeitig zu den virulentesten. Es ist bemerkenswert, daß zwei von den drei auf Ackersegen aggressiven Rassen von der gleichen Sorte aus einem schweren Tiefschorf isoliert werden konnten.

Betrachtet man die Ergebnisse unter dem Gesichtspunkt der Rassenanalyse, so ergibt sich, daß man wohl bei allen Sorten Unterschiede im Pathogenitätsgrad finden kann, daß aber bei Frühnudel und Ackersegen eine Differenzierung besonders deutlich wird. Derartige Sorten werden sich für die Aufstellung eines Testsortimentes, wie es für weitere Untersuchungen vorgesehen ist, besonders eignen.

Tabelle 20 Infektionsergebnisse mit acht Herkünften

Nr. der Isolierung	Frühmölle			Frühbote			Frühnudel			Johanna		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
E_4 23	75	48	2,3	12	9	2,6	13	1	1	119	34	2,4
E_4 44	53	28	2,4	8	6	2,3	35	8	1,7	61	24	2,1
E_3 94	72	46	2,6	17	10	2,5	18	12	2,6	97	44	2,3
E_3 95	78	39	1,9	46	39	3,1	15	1	1	38	22	2,3
E_1 127	62	13	1,6	35	20	2,1	42	11	1,2	23	11	2
E_1 130	66	15	2	50	36	2,4	23	7	1,8	55	23	1,8
E_3 161	38	8	1,5	38	23	2,3	20	6	1	31	22	1,7
E_2 236	50	21	1,7	66	48	2,7	25	3	1,6	31	31	3,1
Kontrolle	87	13	1	23	13	1,6	23	3	1	93	38	2

Zeichenerklärung:
I = Gesamtzahl der Knollen
II = Zahl der erkrankten Knollen
III = Befallsgrad

Befallsgrad = Durchschnittsergebnis aus der Auszählung befallener Knollen und Einteilung in folgendes Schema:
1 = leichter Flachschorf, teilweise fraglichen Ursprungs,
2 = Knolle bis ein Fünftel mit Schorf bedeckt
3 = Knolle bis ein Drittel mit Schorf bedeckt
4 = Knolle bis zur Hälfte mit Schorf bedeckt
5 = Knolle mehr als zur Hälfte mit Schorf bedeckt.

Es erfolgte beim Abschluß des Versuches eine Beurteilung des Schorftypes, worüber nur eine allgemeine Charakteristik gegeben werden soll. In den Fällen, in denen nur geringer Befall beobachtet wurde, handelte es sich ausschließlich um Flachschorf. Je stärker der Befall war, desto öfter trat auch Tiefschorf auf. Daß eine Rasse nur einen Schorftyp bildete, wurde nur bei „E_1 127" (Flachschorf) festgestellt. Es bleibt unklar, ob auch bei Verwendung weiterer Sorten nur dieser Reaktionstyp in Erscheinung treten wird. Bei allen anderen Rassen wurden beide Typen gefunden. Es lagen also keine so klaren Verhältnisse vor, wie sie DE BRUYN (6) bei zwei Rassen in Holland gefunden hatte, die beide einen bestimmten Schorftyp erzeugten.

Als physiologische Rassen bezeichnet man Herkünfte eines Erregers, die sich u. a. in ihrem Pathogenitätsgrad und ihrem Wirtskreis unterscheiden. LEACH, DECKER und BECKER (28) konnten bei Infektionsversuchen mit zwei Herkünften von *Streptomyces scabies* derartige Unterschiede nachweisen. Nach Untersuchungen von SCHAAL (37) ergaben sich auf sechs Kartoffelsorten bzw. -zuchtstämmen zwischen zehn Herkünften des Kartoffelschorferregers deutliche Differenzen. THOMAS (62) kam nach Prüfung von sieben geographisch verschiedenen Herkünften zu dem gleichen Ergebnis.

Auf Grund der vorliegenden Befunde kann man auch hier einzelne Herkünfte als physiologische Rassen bezeichnen, da sie sich in ihrem Wirtskreis und ihrem Pathogenitätsgrad teilweise sehr deutlich voneinander unterschei-

von *Streptomyces scabies* auf neun Kartoffelsorten im Freiland

Immertreu			Merkur			Voran			Ackersegen			Sirius		
I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
15	11	2,1	40	15	2,4	20	9	2,4	17	4	1,2	13	0	0
62	17	2,3	24	13	2,5	40	20	2,2	12	3	1,3	96	70	2,4
71	52	3,6	22	16	2,4	23	8	2,1	15	10	3	82	42	2,5
51	6	1,3	19	0	0	33	24	2,5	16	0	0	ausgefallen		
21	8	2	55	9	1,8	66	39	2,2	16	0	0	53	30	2,6
48	28	2,3	58	28	2,6	16	6	1,8	36	16	2,8	56	42	2,1
111	39	2,7	ausgefallen			25	9	1,8	20	5	1,4	37	20	2,9
25	10	2,1	21	6	2,5	69	42	2,2	22	14	2,7	34	21	2,7
100	26	1,1	22	8	1,5	25	3	1	40	10	1	30	3	1

den. Nähere Angaben über die Spezialisierung auf einen gewissen Wirtskreis oder ein bestimmtes Krankheitsbild können noch nicht gegeben werden, sie sollen das Ziel weiterer Untersuchungen sein.

Die in diesem Versuch gewählte Freilandmethode entsprach den an sie gestellten Anforderungen. Sie ermöglichte bei verhältnismäßig geringem Arbeits- und Sachaufwand einen natürlichen Pflanzenwuchs und für den vorliegenden Zweck eine gute Beurteilung der Pathogenität verschiedener Erregerherkünfte. Auch erhält man einen frühzeitigen Überblick über das Resistenzverhalten von Sorten und Zuchtstämmen. Die Methode dürfte damit auch geeignet sein, in praktischen Zuchtbetrieben bei der Selektion im Rahmen der Resistenzzüchtung Verwendung zu finden. Die Gefahr einer Fremdinfektion ist natürlich immer gegeben und wird vor allen Dingen auf den Böden groß sein, die von Natur aus die Schorfbildung begünstigen. Für die praktische Zuchtarbeit kann das aber nur förderlich sein und die Möglichkeiten der Selektion erhöhen. Andererseits ist in den Jahren, in denen auf Grund bestimmter Witterungsverhältnisse kein oder nur schwacher natürlicher Befall erfolgt, die künstliche Infektion allein ausschlaggebend. Im vorliegenden Fall handelte es sich um einen mittelschweren Lößlehmboden, auf welchem auch in Schorfjahren nur ein geringfügiges Auftreten der Krankheit beobachtet wird. Mithin ermöglicht die Methode, auch auf solchen Böden zu arbeiten, die für eine Feldresistenzprüfung nicht geeignet sind. Es ist aber trotzdem mit Fremdinfektionen zu rechnen, wie sie auch während meiner Versuche auftraten. Hierbei zeigte sich nur die Sorte Johanna von den in unserem Boden befindlichen Vertretern von *Streptomyces scabies* einwandfrei befallen. Bei allen anderen Sorten blieben die Kontrollen befallsfrei oder zeigten nur geringfügige Schädigungen meist fraglichen Ursprungs.

In dem vorliegenden Versuch wurde mit acht Herkünften von *Streptomyces scabies* gearbeitet, wobei eine Vermischung untereinander nicht beobachtet wurde. Eine Ausbreitung der Erreger von Topf zu Topf fand nicht statt. Selbst von Knolle zu Knolle ist sie innerhalb ein und desselben Topfes nur gering und wird wahrscheinlich in gewissem Umfang von der Bodenfauna

begünstigt. Aus diesem Grunde entwickelte sich der Schorf meist nur auf der der Infektionsquelle zugewendeten Seite in einer als typisches Sprühmuster kenntlichen Weise. In der Abb. 21 ist das Infektionsbild von vier Kartoffelstauden der Sorte Frühnudel gezeigt, die in einer Versuchsreihe nebeneinanderstanden. Die Knollen der beiden mittleren Pflanzen wurden mit der hochaggressiven Rasse „E_3 94" beimpft, die linken und rechten Knollen mit „E_3 130" bzw. „E_3 161". Es ist zu erkennen, daß von diesen drei Rassen nur „E_3 94" auf der Sorte Frühnudel Kartoffelschorf zu erzeugen vermochte, die Knollen der unmittelbar benachbarten Stauden jedoch unbeeinflußt blieben. Es läßt sich daraus entnehmen, daß bei einer Rassenanalyse mit mehreren Herkünften des Erregers unter Verwendung der angegebenen Methode nebeneinander gearbeitet werden kann.

Abb. 21. Infektionsergebnisse an der Sorte Frühnudel. Die Knollen wurden in der Reihenfolge von links nach rechts mit folgenden Erregerherkünften infiziert: E_1 130, E_3 94, E_3 94, E_3 161

Der günstigste Zeitpunkt für die Infektion steht in direkter Beziehung zur Knollenbildung, welche sich nach meinen Beobachtungen über zwei bis drei Wochen erstrecken kann. Unter Gewächshausbedingungen mußte bereits beim Erscheinen der ersten Knollen infiziert werden, weil deren Zahl nur gering blieb. Im Feldversuch wurden durchschnittlich 20 Knollen je Topf ausgebildet. Bei einer frühen Infektion würde nur ein geringer Teil der Knollen betroffen werden, während eine späte Infektion eine größere Anzahl von Knollen vorfindet, die durch die Ausbildung eines Korkgewebes ihr anfälliges Stadium bereits überschritten haben; es wurde daher mehrfach infiziert. Die erste Infektion erfolgte nach dem Erscheinen der ersten Knollen, die zweite zehn Tage später. Trotzdem konnten nicht alle Knollen erfaßt werden. Die nach der Infektion gebildeten Knollen blieben meist klein und zeigten nur geringen Befall. Sie wurden aber zur Beurteilung des Befallsgrades mit herangezogen.

Die Ernte und Auswertung erfolgte in der Weise, daß die Pflanzen mit beginnender Abreife oberhalb des Topfes abgeschnitten, die Töpfe von der

Erde freigelegt und aufgenommen wurden. Eine Beurteilung des Befalles ist durch die freie Lage der Knollen gleich auf dem Felde möglich und ein Waschen derselben, wie es im vorliegenden Versuch durchgeführt wurde, nur für quantitative Feststellungen erforderlich.

Die Untersuchungen zur Pathogenität von *Streptomyces scabies* haben ergeben, daß größere Virulenzunterschiede zwischen einzelnen Herkünften des Erregers bestehen. Derartige Unterschiede mögen im praktischen Kartoffelbau bei einzelnen Sorten verschiedentlich die Ursache für eine gewisse Relativität der Resistenz sein. Die Sorte Ackersegen hatte z. B. in mehrjährigen Feldversuchen von SCHLUMBERGER (49) eine verhältnismäßig hohe Resistenz gezeigt und wurde daher lange Zeit als eine der widerstandsfähigsten Kartoffelsorten betrachtet. Trotzdem wurden bereits frühzeitig Stimmen laut (4), die auf die in bestimmten Gebieten zu beobachtende Schorfanfälligkeit hinwiesen. Nachdem von HEY (11) die Ergebnisse einer größeren Zahl von Beobachtungsstellen zur Beurteilung der Schorfresistenz herangezogen wurden, ergab sich ebenfalls, daß die Sorte Ackersegen nicht immer zu den widerstandsfähigen Sorten zu rechnen ist. Gegenüber einer großen Zahl anderer zum Anbau zugelassener Kartoffelsorten, die teilweise sehr stark anfällig sind, besitzt jedoch Ackersegen eine gewisse Resistenz, und daher wird sie von HEY (11) zu den „ziemlich widerstandsfähigen" Sorten gerechnet. Bei den schorfkranken Kartoffelproben, die als Ausgangsmaterial für die vorliegenden Untersuchungen eingesandt wurden, befanden sich, wie bereits mitgeteilt (siehe S. 224) Knollen der Sorte Ackersegen, die verschiedentlich sehr starken Schorfbefall zeigten. Auf Grund dieses Befundes hätte man sie zu den schorfanfälligen Sorten rechnen müssen. Zur Beurteilung der Schorfresistenz erscheint es notwendig, die Ergebnisse einer größeren Zahl über das ganze Anbaugebiet verstreuter Beobachtungsstellen heranzuziehen und sich nicht auf die Ergebnisse eines Versuchsortes zu beschränken. Dieser Weg der Resistenzprüfungen erscheint nicht nur wegen der Berücksichtigung der örtlich verschiedenen Erregerpopulationen richtig, sondern auch, um dem Einfluß edaphischer und klimatischer Faktoren auf den Krankheitsbefall Rechnung zu tragen.

Es war nicht das Ziel der vorliegenden Untersuchungen, die Feldresistenzprüfungen durch die Verwendung einer anderen Methode ersetzen zu wollen. Diese Feldversuche behalten ihren uneingeschränkten Wert. Es sollte vielmehr versucht werden, durch die Erarbeitung von Grundlagen über den Kartoffelschorferreger und die praktische Verwendung von künstlichen Infektionen, Mittel und Wege zu finden, um die Erfolgsaussichten der Resistenzzüchtung zu vergrößern.

Die heutigen noch bescheidenen Kenntnisse über den Kartoffelschorferreger und die von mir verwendete Infektionsmethode werden es vielleicht ermöglichen, die Resistenzzüchtung gegen den Kartoffelschorf auf eine breitere Grundlage zu stellen. Durch die Möglichkeit, Resistenzprüfungen in einer Vegetationsperiode durchführen zu können, ohne die Ergebnisse mehrjähriger Feldversuche abwarten zu müssen, ist die Bearbeitung eines größeren Zucht-

materials in Aussicht gestellt. Zur Durchführung der Infektionen kann eine aus einer größeren Zahl hochvirulenter Herkünfte von *Streptomyces scabies* zusammengestellte Erregerpopulation verwendet werden. Durch solche Erregerpopulationen wird in beschränktem Maße der physiologischen Spezialisierung Rechnung getragen. Die in den vorliegenden Untersuchungen verwendete Infektionsmethode kann für eine Art Vorselektion benutzt werden. Alle sich hierbei als wertvoll erweisenden Sorten bzw. Zuchtstämme werden anschließend in mehrjährigen Feldversuchen unter den verschiedensten edaphischen und klimatischen Bedingungen auf ihre Feldresistenz geprüft werden. Es darf angenommen werden, daß die Infektionsmethode mit „L-Töpfen" und die Feldversuche gemeinsam zur Verbesserung der züchterischen Arbeiten beitragen werden.

VI. Zusammenfassung

1. Auf Grund von Isolierungsergebnissen, stoffwechselphysiologischen Untersuchungen und Pathogenitätsprüfungen ergab sich an Hand mehrerer Herkünfte eines vermutlichen Kartoffelschorferregers, daß als tatsächlicher Erreger in der Hauptsache nur eine Art der Gattung *Streptomyces*, und zwar *Streptomyces scabies*, zu betrachten ist. Die Möglichkeit des Vorkommens anderer Schorferregerarten wird damit nicht ausgeschlossen.

2. Die von TAYLOR und DECKER (60) aufgestellte Beziehung zwischen dem Kulturcharakter von *Streptomyces scabies* auf Magermilch und der Pathogenität auf Kartoffeln konnte bestätigt werden. Der Sojabohnentest nach HOOKER (14) erwies auch unter den vorliegenden Verhältnissen seine Gültigkeit.

3. Zwischen einer größeren Anzahl geographisch verschiedener Herkünfte von *Streptomyces scabies* konnten bei der Beurteilung der morphologischen Einzelelemente sowohl bei fixiertem als auch bei vitalgefärbtem Material keine Unterschiede gefunden werden. Es wird eine genaue morphologische Beschreibung gegeben.

4. Bei einer größeren Zahl von Herkünften von *Streptomyces scabies* wurden eine Reihe physiologischer Reaktionen geprüft, wobei eine große Variabilität festzustellen war. Qualitative Unterschiede zwischen einzelnen Erregerherkünften ließen sich bei der Stärkehydrolyse nachweisen. Andere Reaktionen fielen auch nicht einheitlich aus, sie ließen größere quantitative Unterschiede erkennen.

5. Im Rahmen ernährungsphysiologischer Studien über die Ausnutzung verschiedener Stickstoff- und Kohlenstoffverbindungen ergaben sich zwischen einzelnen Erregerherkünften deutliche Unterschiede im Wuchstyp. Diese waren teilweise so groß, daß man sie fast zur Artenanalyse benutzen konnte.

6. Komplexe Medien eigneten sich für die Rassenanalyse nicht. Die auf synthetischen Medien zwischen einzelnen Erregerherkünften festgestellten Unterschiede ließen sich nicht erkennen.

7. Die Empfindlichkeit einzelner Herkünfte von *Streptomyces scabies* gegenüber der Reaktion des Mediums war unterschiedlich. Das Keim- und Wachstumsminimum lag zwischen pH 4,8 und pH 5. Innerhalb eines pH-Bereiches von 5 bis 5,4 waren deutliche Keimungs- und Wachstumsunterschiede zwischen einzelnen Rassen zu erkennen. Die Ergebnisse von Wingerberg (66), daß das Keimungsminimum bereits bei pH 4 liegen soll, konnten bei der Prüfung von 64 verschiedenen Erregerherkünften nicht bestätigt werden.

8. In Anlehnung an Hooker (15) wurde eine modifizierte Methode zur Ermittlung der sortentypischen Resistenz ausgearbeitet und ihre Anwendungsmöglichkeiten und -grenzen unter Gewächshaus-, Frühbeet- und Freilandverhältnissen untersucht.

9. Pathogenitätsprüfungen an einem zehn Sorten umfassenden Testsortiment ergaben deutliche Virulenzunterschiede zwischen einzelnen Herkünften. Die Sorten Ackersegen und Frühnudel wurden nur von wenigen Erregerherkünften befallen, die gleichzeitig auf den übrigen Sorten größte Virulenz gezeigt hatten. Die Ergebnisse langjähriger Feldversuche, daß die beiden genannten Sorten gewisse Resistenzeigenschaften besitzen, konnten damit bestätigt werden.

10. Die Untersuchungen brachten den Nachweis einer weitgehenden physiologischen Spezialisierung des Erregers des Kartoffelschorfes, *Streptomyces scabies*.

Literaturverzeichnis

1. Afanasiev, M. M., 1937. Comparative physiology of Actinomyces in relation to potato scab. Nebraska agr. exp. stat. Res. Bull. **92**.
2. Allen, O. N., 1949. Experiments in soil bacteriology. Burgess Publishing Co, Minneapolis.
3. Berkner, F., 1933. Die Ursache des Kartoffelschorfes und Wege zu seiner Bekämpfung. Landw. Jb. **78**, 295—342.
4. Böning, K. und Wallner, F., 1937/38. Beobachtungen und Versuche zur Frage der Widerstandsfähigkeit der Kartoffelsorten gegen Schorf. Prakt. Bl. f. Pflzb. u. Pflanzenschutz **37**, 268—279.
5. Browning, C. H. and MacKie, T. J., 1949. Textbook of bacteriology. Oxford Univers. Press.
6. de Bruyn, H. L. G., 1939. Onderzoekingen over enkele actinomyceten welke aardappelschurft verwekken. Tijdschr. plantenziekten **45**, 135—156.
7. Drechsler, C., 1919. Morphology of genus Actinomyces. Bot. gaz. **67**, 65—83 u. 147—164.
8. Fellows, H., 1926. Relation of growth in the potato tuber to the potato scab disease. J. agr. res. **32**, 757—781.

9. FRANK und KRÜGER, 1896. Untersuchungen über den Schorf der Kartoffel. Z. Spiritusindustrie, Ergheft **1**, 3—11.

10. GOSS, R. W., 1934. A survey of potato scab and fusarium wilt in western Nebraska. Phytopathology **24**, 517—527.

11. HEY, A., 1951. Über die Schorfresistenz der in der DDR zugelassenen Kartoffelsorten. Nachrbl. dtsch. Pflzschutzd. n. F. **5**, 86—91.

12. HOLLIS, J. P., 1952. Studies on *Streptomyces scabies*. I. Variability in a melanin-indicator medium. Phytopathology **42**, 273—276.

13. HOLLRUNG, M., 1930-31. Ein Beitrag zur Lösung der Frage nach der Entstehungsweise des gewöhnlichen Kartoffelschorfes. Wiss. Arch. Landw. **5**, 201—246.

14. HOOKER, W. J., 1949. Parasitic action of *Streptomyces scabies* on roots of seedlings. Phytopathology **39**, 442—462.

15. — —, 1950. A technique for observing tuber enlargement and scab development. Phytopathology **40**, 390—391.

16. HUBBARD, C. V. and THORNBERRY, H. H., 1946. Utilization of various carbohydrates by *Streptomyces griseus* for production of streptomycin and growth. Illinois acad. sci. transact **39**, 57—64.

17. HUMPHREY, J. E., 1890. Report of vegetable pathologist. Massachusetts state stat. ann. rep.

18. JANKE, A., 1946. Arbeitsmethoden der Mikrobiologie. Steinkopf, Dresden.

19. JERMOLJEV, E. und SETHOFER, V., 1949. Zkušenosti nabyte přizještovani vzdornosti brambor k aktinomykose. Ochrana rostlin **12**, 204—225.

20. KENKNIGHT, G., 1939. Isolation of phytopathogenic actinomycetes. Phytopathology **29**, 1000.

21. KIESSLING, L. E., 1933. Biologische Maßnahmen zur Unterdrückung des Kartoffelschorfes. Kühn Archiv **38**, 184—199.

22. — —, 1933/34. Wachstumsverlauf von Actinomycetenstämmen und seine quantitative Bestimmung auf verschiedenem Kartoffelnährsubstrat. Centralbl. Bakt. II, **89**, 177 bis 196.

23. KLINKOWSKI, M. und HOFFMANN, G., 1952. Eine Methode zur Schorfresistenzprüfung der Kartoffel. Der Züchter **22**, 92—94.

24. KRAINSKY, A., 1914. Die Actinomyceten und ihre Bedeutung in der Natur. Centralbl. Bakt. II, **41**, 649—688.

25. KRASSILNIKOW, N. A., 1949. Bestimmungsbuch für Bakterien und Actinomyceten. Akad. Wiss. USSR, Moskau-Leningrad.

26. KREBS, 1928. Beobachtungen über den Kartoffelschorf. Die Kartoffel **8**, 258—259.

27. LANGE, B., 1952. Kolorimetrische Analyse. Chemie-Verlag, Weinheim.

28. LEACH, J. G., DECKER, P. and BECKER, H., 1939. Phytopathogenic races of *Actinomyces scabies* in relation to scab resistance. Phytopathology **29**, 204—209.

29. LIESKE, R., 1921. Morphologie und Biologie der Strahlenpilze. Borntraeger, Leipzig.

30. LUTMANN, B. F. and CUNNINGHAM, G. C., 1914. Potato scab. Vermont agr. expt. stat. Bull. 184.

31. MILLARD, W. A. and BURR, S., 1926. A study of twenty-four strains of Actinomyces and their relation to types of common scab of potato. Ann. appl. biol. **13**, 580—644.

32. MÜNTER, F., 1913. Über Actinomyceten des Bodens. Centralbl. Bakt. II, **36**, 365—381.

33. NOLL, A., 1939. Untersuchungen über die Biologie und Bekämpfung des Kartoffelschorfes (*Actinomyces*). Landw. Jb. **89**, 41—113.

34. v. PLOTHO, O., 1948. Farbstoffe und Antibiotika bei Actinomyceten. Arch. Mikrobiol. **14**, 142—153.

35. SANFORD, G. B., 1926. Some factors affecting the pathogenicity of *Actinomyces scabies*. Phytopathology **16**, 525—547.

36. Schaal, L. A., 1940. Variation in the tolerance of certain physiologic races of *Actinomyces scabies* to hydrogen-ion concentration. Phytopathology **30**, 699—700.
37. — —, 1944. Variation and physiologic specialisation in the common scab fungus (*Actinomyces scabies*). J. agr. res. **69**, 169—186.
38. Schlumberger, O., 1927. Über das Verhalten der Kartoffelsorten gegen Schorf. Mitt. DLG, **42**, 200—202.
39. — —, 1928. Prüfung von Kartoffelsorten auf ihr Verhalten gegen Schorf im Jahre 1927. Mitt. DLG, **43**, 33—35.
40. — —, 1929. Prüfung von Kartoffelsorten auf ihr Verhalten gegen Schorf im Jahre 1928. Mitt. DLG, **44**, 110—112.
41. — —, 1930. Prüfung von Kartoffelsorten auf ihr Verhalten gegen Schorf im Jahre 1929. Mitt. DLG. **45**, 72—74.
42. — —, 1931. Prüfungen der Kartoffelsorten auf ihr Verhalten gegen Schorf im Jahre 1930. Mitt. DLG, **46**, 229—232.
43. — —, 1932. Prüfung von Kartoffelsorten auf ihr Verhalten gegen Schorf im Jahre 1931. Mitt. DLG, **47**, 55—57.
44. — —, 1933. Versuche zur Bekämpfung des Kartoffelschorfes im Jahre 1932. Mitt. DLG, **48**, 195—197.
45. — —, 1934. Versuche zur Bekämpfung des Kartoffelschorfes im Jahre 1933. Mitt. f. d. Landw. **49**, 140—142.
46. — —, 1935. Versuche zur Bekämpfung des Kartoffelschorfes. Mitt. f. d. Landw. **50**, 129—130.
47. — —, 1936. Prüfung von Kartoffelsorten auf Schorfwiderstandsfähigkeit. Mitt. f. d. Landw. **51**, 57—58.
48. — —, 1937. Kartoffelsortenprüfung auf Schorfwiderstandsfähigkeit. Mitt. f. d. Landw. **52**, 52—53.
49. — —, 1938. Kartoffelsortenprüfung auf Schorfwiderstandsfähigkeit. Mitt. f. d. Landw. **53**, 99.
50. — —, 1939. Kartoffelsortenprüfung auf Schorfwiderstandsfähigkeit. Mitt. f. d. Landw. **54**, 29—30.
51. — —, 1939. Prüfung der Kartoffelsorten auf Widerstandsfähigkeit gegen den gewöhnlichen Kartoffelschorf. Landw. Jb. **87**, 590.
52. — —, 1940. Kartoffelsortenprüfung auf Schorfwiderstandsfähigkeit 1939. Mitt. f. d. Landw. **55**, 9—11.
53. — —, 1941. Kartoffelsortenprüfung auf Schorfwiderstandsfähigkeit. Mitt. f. d. Landw. **56**, 111—112.
54. — —, 1942. Kartoffelsortenprüfung auf Schorfwiderstandsfähigkeit 1941. Mitt. f. d. Landw. **57**, 246—247.
55. — —, 1943. Kartoffelsortenprüfung auf Schorfwiderstandsfähigkeit 1942. Mitt. f. d. Landw. **58**, 187.
56. Shapovalov, M., 1915. Effect of temperature on germination and growth of the common potato scab organism. J. agr. res. **4**, 129—134.
57. Stakman, E. C., 1929. Physiologic specialisation in plant pathogenic fungi. Leopoldina, Amerikaband **4**, 263—289.
58. Strutz, I., 1952. Beiträge zur Kenntnis der Biologie der Actinomyceten. Arch. Mikrobiol. **17**, 353—360.
59. Taylor, C. F., 1936. A method for isolation of Actinomyces from scab lesions on potato tubers. Phytopathology **26**, 387.
60. — — and Decker, P., 1947. A correlation between pathogenicity and cultural characteristics in the genus Actinomyces. Phytopathology **37**, 49—58.
61. Thaxter, R., 1891. The potato scab. Connecticut agr. stat. ann. rep. 153—166.

62. Thomas, W. D., 1947. Growth and variation of six physiologic races of *Actinomyces scabies* on different cultur media. Phytopathology **37**, 319—331.

63. Wagner, K., 1948. Kursus der veterinärmedizinischen Mikrobiologie. Paul Parey, Berlin.

64. Waksman, S. A., 1918. Studies on the proteolytic enzymes of soil fungi and actinomyces. J. bact. **3**, 509—530.

65. — —, 1950. The Actinomycetes. Waltham, Mass.

66. Wingerberg, F., 1932. Studien über den gewöhnlichen Kartoffelschorf und seine Erreger. Kühn-Archiv **33**, 258—295.

67. Wollenweber, W. H., 1920. Der Kartoffelschorf. Arb. Forschinst. Kartoffelbau, Heft 2.

68. — —, 1923. Krankheiten und Beschädigungen der Kartoffel. Arb. Forschinst. Kartoffelbau, Heft 7.

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich

Über die Wirkung von Pyramidon auf pflanzliche Zellen*)

Von

E. Gäumann, K. H. Richle, A. Riggenbach und V. Flück

Mit 6 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — 1. Kapitel. Die Wirkung des Pyramidons auf den Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse. — § 1. Die Methode. — § 2. Die Ergebnisse der Transpirationsversuche mit Tomatensprossen. — § 3. Allgemeine Betrachtungen. — 2. Kapitel. Die schädigende Wirkung des Pyramidons auf die Gewebe von roten Rüben. — § 1. Die Methode. — § 2. Der Einfluß steigender Pyramidonkonzentrationen auf den Austritt von Anthocyan aus den Randengeweben. — § 3. Besprechung der mit Randengeweben gewonnenen Ergebnisse. — Zusammenfassung. — Literatur.

Einleitung

Einige Welketoxine und Antibiotica schädigen bei pflanzlichen Zellen die selektive Permeabilität der Plasmagrenzschichten und des Plasmas in einem Ausmaß, daß osmotisch wirksame Stoffe aus dem Zellinnern ins Freie treten. Anderseits ist der Humanmedizin bekannt, daß Pyramidon und andere Antipyretica im Körper der Warmblüter gerade entgegengesetzt, nämlich kapillardichtend, also permeabilitätsvermindernd, wirken (z. B. Eppinger 1949, S. 180, Wilhelmi 1949, Gross 1950, Eichholz 1950, Muschaweck 1950).

Wir fragten uns deshalb, ob diese Stoffe auch in pflanzlichen Geweben die Permeabilität herabsetzen. Wenn dies nämlich zuträfe, so würden sie gegen die Welketoxine antagonistisch wirken, und damit wäre ein Fingerzeig für eine später auszubauende innere Therapie der Pflanzen gewonnen. Unser Gedanke war somit

*) Die vorliegende Arbeit wurde durch einen Beitrag aus dem schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt. Wir möchten den zuständigen Behörden auch hier unsern Dank wiederholen.

1. sensible pflanzliche Objekte zuerst mit Pyramidon und dann mit einem Welketoxin zu behandeln; in diesem Falle mußte sich der abdichtende Effekt des Pyramidons schon bei der Intrabilität des Plasmas für das Welketoxin zeigen. Und

2. dieselben pflanzlichen Objekte zuerst mit einem Welketoxin und hernach mit Pyramidon zu behandeln; in diesem Falle mußte sich bloß die Wegsamkeit des Plasmas und der Plasmagrenzschichten für die austretenden Zellinhaltsstoffe verschieben.

Leider wurde diese Fragestellung durch die Tatsachen überholt; denn das Pyramidon wirkt bei den zwei von uns geprüften pflanzlichen Objekten verschieden, bei dem einen stark permeabilitätserhöhend, während es bei dem andern die Permeabilität nicht meßbar beeinflußt; deshalb beschränken wir uns in der vorliegenden Arbeit darauf, die Wirkung des Pyramidons für sich selbst, ohne Rücksicht auf das Problem der Welketoxine, näher zu verfolgen.

Die üblichen Methoden der vergleichenden Permeabilitätsmessung (z. B. COLLANDER und WIKSTRÖM 1949, COLLANDER 1949, 1950, URI 1952) lassen sich für unsere besondere Fragestellung quantitativ nur ungenügend auswerten. Wir suchten deshalb die Wirkung des Pyramidons auf anderem Wege zu erfassen und stellten uns die Frage: 1. Wie wirkt Pyramidon auf den Wasserhaushalt von Tomatensprossen? Und 2. Wie wirkt Pyramidon auf den Austritt von Anthocyan bei roten Rüben?

1. Kapitel

Die Wirkung des Pyramidons auf den Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse

Falls Pyramidon auf pflanzliche Gewebe abdichtend wirkt, so muß dieser abdichtende Effekt unmittelbar im Wasserhaushalt pflanzlicher Sprosse zu erkennen sein. Unsere erste Versuchsfrage lautet deshalb: Wie wirkt Pyramidon auf den Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse ein?

§ 1. Die Methode

Die Arbeitsmethode wurde von GÄUMANN und JAAG (1947, S. 3 u. f.) beschrieben: Abgeschnittene Tomatensprosse mit vier bis fünf Blättern und einem Gewicht von rund 10 g werden in Leitungswasser gestellt und in einem Versuchsraum mit konstanter Temperatur (21—22°) und konstanter Luftfeuchtigkeit (60—70 %) akklimatisiert. Dann wird das Leitungswasser durch eine Pyramidonlösung ersetzt; die Wasseraufnahme des Sprosses wird stündlich an einem Potetometer abgelesen; ferner wird die Wasserabgabe an Hand der Bewegungen des verlängerten Waagebalkens photographisch registriert.

Gegenüber der früher (Abb. 1 und 3) geschilderten Versuchseinrichtung war nur die Beleuchtung verbessert worden, indem die IKa-Neonröhren in

einem faßartigen Behälter rings um die Versuchspflanze angeordnet wurden (Abb. 1), so daß der Lichteinfall von allen Seiten her gleich groß war. Die Lichtintensität betrug 900 bis 1200 Lux und wurde durch Transformatoren mit stufenloser Schaltung reguliert.

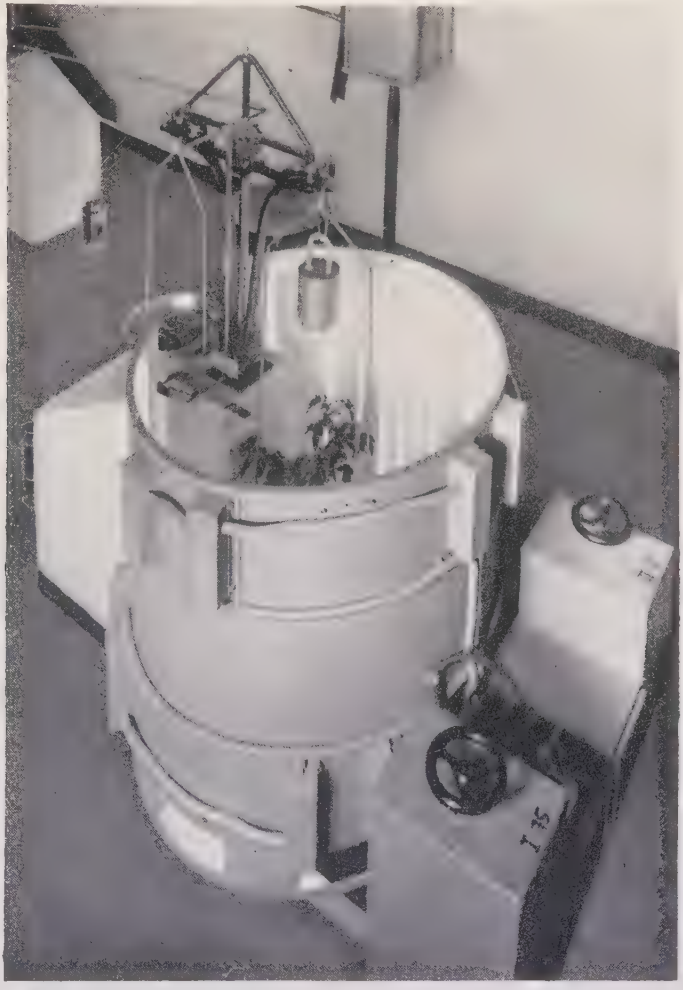


Abb. 1.
Die Beleuchtungseinrichtung einer Transpirationswaage, rund um die Versuchspflanze angeordnet.
1/16 nat. Gr.

Aufn.:
Phot. Inst. E T H

Bei jeder Pyramidonkonzentration wurden mindestens vier gleichartige Sprosse geprüft; die hier mitgeteilten Werte sind deshalb stets Mittelwerte aus mindestens vier Parallelen. Außer den Versuchen im Licht wurden auch entsprechende Versuche im Dunkeln angestellt; da sie aber keine abweichenden Ergebnisse lieferten, verzichten wir auf ihre Wiedergabe.

§ 2. Die Ergebnisse der Transpirationsversuche mit Tomatensprossen

Wir beginnen mit der Besprechung der Kontrolle:

1. Versuchsreihe

Versuchsfrage: Wie gestaltet sich der Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse, wenn sie nach erfolgter Akklimatisierung aus dem Leitungswasser in total entsalztes Wasser übertragen werden?

Antwort: Ihr Wasserhaushalt bleibt unter diesen Umständen unverändert (Abb. 2, oberstes Kurvenbild), Wasseraufnahme und Wasserabgabe halten sich im Durchschnitt ungefähr die Waage.

Die nächstfolgenden Versuchsreihen begannen mit der Pyramidonkonzentration von 10^{-10} molar und schritten über 10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7} und 10^{-6} molar fort. Sichere Ausschläge waren erst bei der Pyramidonkonzentration von 10^{-5} molar zu erkennen. Sie sind in der 2. Versuchsreihe dargestellt.

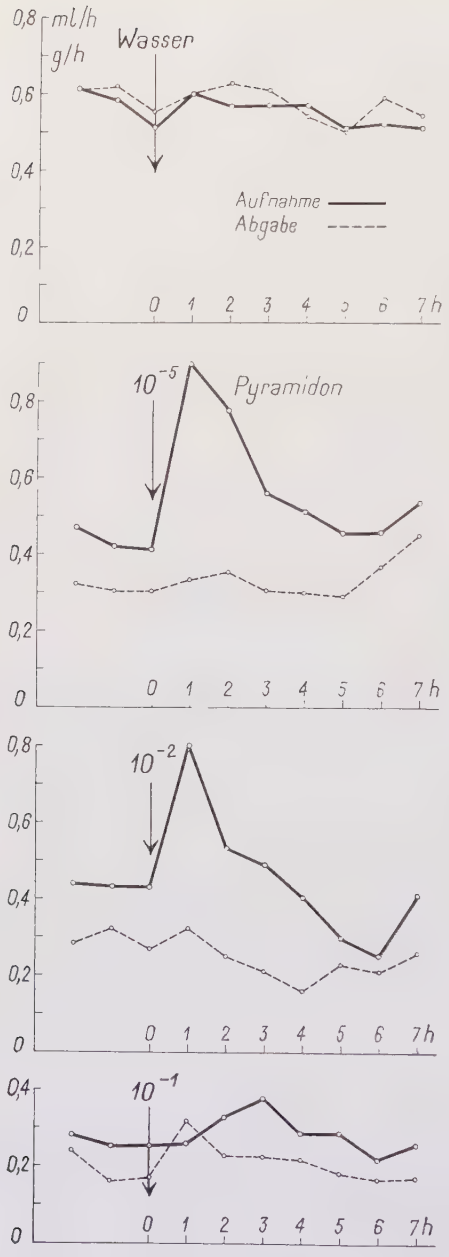


Abb. 2. Der Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse, die nach erfolgter Akklimatisierung aus dem Leitungswasser entweder in total entsalztes Wasser oder in eine 10^{-5} molare oder in eine 10^{-2} molare oder in eine 10^{-1} molare Pyramidonlösung übertragen wurden. Die Übertragung erfolgte jeweils beim Pfeil. Abszisse: Versuchsdauer in Stunden; aus Gründen der Raumökonomie wurden jeweils nur die ersten sieben Versuchsstunden wiedergegeben. Ordinate: Wasseraufnahme (ausgezogene Kurve) und Wasserabgabe (kutikulare plus stomatäre Transpiration; gestrichelte Kurve) des gesamten Sprosses in ml (bei der Wasseraufnahme) bzw. in g (bei der Wasserabgabe) je h

2. Versuchsreihe

Versuchsfrage: Wie gestaltet sich der Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse, wenn statt total entsalztem Wasser eine 10^{-5} molare Pyramidonlösung nachgeschoben wird?

Antwort: In diesem Falle erfolgt während der ersten Versuchsstunden eine erhebliche Steigerung der Wasseraufnahme, während gleichzeitig die Wasserabgabe unbeeinflußt bleibt; die Tomatengewebe werden also unter dem Einflusse des Pyramidons wasserreicher. Etwa fünf bis sechs Stunden nach der Applikation des Pyramidons klingt dieser stauende Effekt aus.

Dieser stauende Effekt des Pyramidons bleibt auch bei den Pyramidonkonzentrationen von 10^{-4}, 10^{-3} und 10^{-2} molar (Abb. 2) bestehen: Die Tomatensprosse antworten bei allen diesen Konzentrationen auf die Übertragung aus dem Leitungswasser in die Pyramidonlösung mit einer starken, jedoch vorübergehenden Steigerung der Wasseraufnahme, während die Wasserabgabe, also die kutikulare und stomatäre Transpiration, unverändert bleibt.

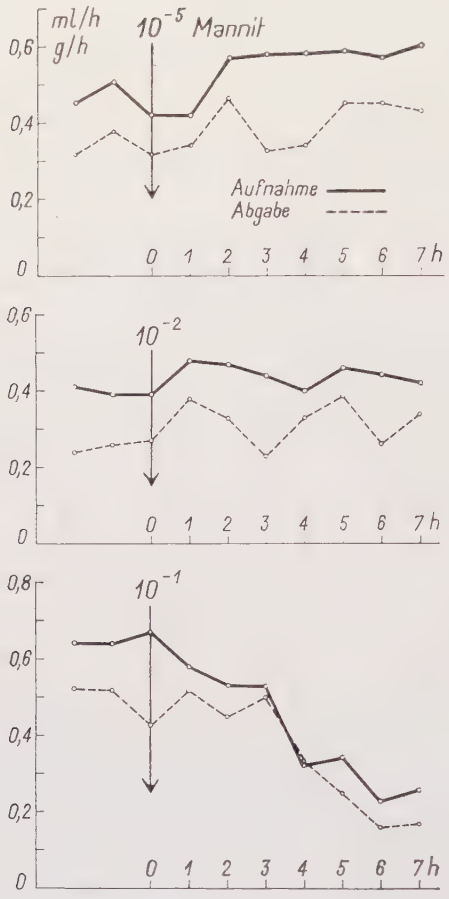
Ein abdichtender Effekt des Pyramidons ist somit beim Wasserhaushalt der Tomatensprosse im Bereich der Pyramidonkonzentrationen von 10^{-5} bis 10^{-2} molar nicht zu erkennen.

Erst bei der Pyramidonkonzentration von 10^{-1} molar (Abb. 2, unterstes Kurvenbild) ändert sich die Sachlage: Auf die Übertragung der Tomatensprosse in die Pyramidonlösung erfolgt bei dieser Konzentration keine pathologische Steigerung der Wasseraufnahme mehr, sondern Wasseraufnahme und Wasserabgabe halten sich, wie bei den Kontrollen, vor und nach der Übertragung aus dem Leitungswasser ungefähr die Waage; dagegen zeigen die Sprosse ungefähr 20 Stunden nach der Übertragung in die Pyramidonlösung starke Schädigungen an den Blättern, die bei den übrigen geprüften Konzentrationen nie festgestellt werden konnten. Die Blätter verbleichen längs der Nerven, zeigen in den Interkostalfeldern blasige Deformationen, rollen sich dann zusammen und werden schlaff.

Die Stengel bleiben dagegen turgeszent. Mit der Pyramidonkonzentration von 10^{-1} molar ist demnach die kritische Grenze überschritten, bei welcher das Pyramidon manifest schädigend zu wirken beginnt.

Es bleibt nunmehr die Frage zu prüfen: Sind die beiden soeben besprochenen Effekte, nämlich

1. die temporäre Übersteigerung der Wasseraufnahme bei gleichbleibender Wasserabgabe im Bereich der Konzentrationen von 10^{-5} bis 10^{-2} molar, und
2. die nachhaltige Schädigung der Tomatensprosse ohne wesentliche Beeinflussung ihres Wasserhaushaltes bei der Konzentration von 10^{-1} molar



spezifische Effekte des Pyramidons oder sind es bloß osmotische Phänomene, die auch durch andere organische Verbindungen von ähnlichem Molekulargewicht ausgelöst werden? Als chemisch inaktive Vergleichssubstanz diente Mannit (Molekulargewicht 182; Pyramidon 231). Eine mit dem Zellinhalt isotonische Mannitlösung (Plasmolyse!) ist etwa 2,6—2,7 · 10^{-1} molar.

Abb. 3. Der Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse, die nach erfolgter Akklimatisierung aus dem Leitungswasser in eine 10^{-5} bzw. eine 10^{-2} bzw. in eine 10^{-1} molare Mannitlösung übertragen wurden. Die Übertragung erfolgte jeweils beim Pfeil. Abszisse: Versuchsdauer in Stunden; aus Gründen der Raumökonomie wurden jeweils nur die ersten sieben Versuchsstunden wiedergegeben. Ordinate: Wasseraufnahme (ausgezogene Kurve) und Wasserabgabe (kutikulare plus stomatäre Transpiration; gestrichelte Kurve) des gesamten Sprosses in ml (bei der Wasseraufnahme) bzw. in g (bei der Wasserabgabe) je h

3. Versuchsreihe

Versuchsfrage: Wie gestaltet sich der Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse, wenn statt total entsalztem Wasser eine 10^{-5}, 10^{-2} bzw. eine 10^{-1} molare Mannitlösung nachgeschoben wird?

Die Mittelwerte aus den Ergebnissen von je vier Sprossen sind in Abb. 3 zusammengestellt. Die betreffenden Kurven entsprechen in ihren Voraussetzungen den Kurven der Abb. 2; doch ist das Ergebnis völlig verschieden: Die Übertragung der Tomatensprosse aus dem Leitungswasser in eine 10^{-5} bzw. in eine 10^{-2} molare Mannitlösung führt nicht, wie beim Pyramidon, zu einer vorübergehenden Übersteigerung der Wasseraufnahme, sondern Wasseraufnahme und Wasserabgabe bleiben beim Übergang in die Mannitlösung im wesentlichen unverändert.

Erst bei der sehr hohen Mannitkonzentration von 10^{-1} molar treten Störungen im Wasserhaushalt der Sprosse ein, indem sowohl die Wasseraufnahme als die Wasserabgabe dauernd absinken; es handelt sich vielleicht um

eine physikalische Verstopfung der Intermizellarräume der Zellwände, wie sie schon früher durch HODGSON, PETERSON und RIKER (1949) und durch GÄUMANN und JAAG (1950) für Inulin und andere großmolekulare, chemisch inerte Stoffe festgestellt wurde.

Aus Abb. 3 geht somit hervor, daß die durch Abb. 2 ausgewiesene vorübergehende Übersteigerung der Wasseraufnahme der Tomatensprosse unter der Einwirkung des Pyramidons nicht auf einem unspezifischen osmotischen Effekt der betreffenden Lösung beruht, sondern eine spezifische Wirkung des Pyramidons selbst darstellt.

§ 3. Allgemeine Betrachtungen

Für die Wirkung des Pyramidons auf die Gewebe von Tomatensprossen ist kennzeichnend,

a) daß es die Saugkraft der Gewebe erhöht;

b) daß diese Steigerung nur vorübergehend ist,

und c) daß die im Bereich der Wirkungsschwelle ausgelöste Erhöhung der Saugkraft durch eine weitere Steigerung der Pyramidongaben nicht mehr weiter gesteigert werden kann.

Zu a): Die Saugkraft der Gewebe der Tomatensprosse wird erhöht.

Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu den Erwartungen. Würde Pyramidon in einem primitiven Sinne „abdichtend" wirken, so müßte es, unabhängig von der Wasseraufnahme, die Wasserabgabe irgendwie drosseln; die gestrichelten Kurven müßten somit in Abb. 2 nach der Übertragung der Sprosse aus dem Leitungswasser in die Pyramidonlösung irgendwie absinken. Das tun sie jedoch nirgends, sondern die Wasserabgabe der Versuchssprosse bleibt bei sämtlichen tolerierten Pyramidonkonzentrationen in einer auffallenden Weise unberührt. Nur die Wasseraufnahme wird drastisch gesteigert; also ist die Saugkraft der Zellen entscheidend erhöht worden.

Dieser Widerspruch zu den Erfahrungen der Humanmedizin läßt sich auf zwei gegensätzliche Arten deuten. Man kann sich einerseits vorstellen, daß die Gewebe der Tomatensprosse auf Pyramidon in einer grundsätzlich andern Weise antworten als die tierisch-menschlichen Gewebe, nämlich mit einer Erhöhung der Saugkraft der Zellinhalte statt mit einer Herabsetzung der Permeabilität der Zellmembranen (d. h. der Plasmagrenzschicht).

Oder man kann sich anderseits vorstellen, daß sowohl die Gewebe der Tomatensprosse als die tierisch-menschlichen Gewebe auf die Applikation des Pyramidons in einer grundsätzlich gleichen Weise antworten, nämlich mit einer Erhöhung der Saugkraft der Zellinhalte, wobei aber diese Erhöhung der Saugkraft der Zellinhalte im tierisch-menschlichen Gewebe wegen der andern Versuchsmethodik zu ähnlichen Effekten führt wie eine Herabsetzung der Permeabilität der Plasmagrenzschicht; die abdichtende Wirkung des Pyramidons würde also in diesem Falle bloß vorgetäuscht.

Welche dieser beiden Alternativen im vorliegenden Falle zutrifft, vermögen wir nicht zu entscheiden.

Zu b): Die Steigerung der Saugkraft erfolgt nur vorübergehend.

Die Kurve der Wasseraufnahme nähert sich in Abb. 2 sowohl bei der Pyramidonkonzentration von 10^{-5} molar als bei derjenigen von 10^{-2} molar nach etwa fünf Stunden wieder der Kurve der Wasserabgabe. Die Steigerung der Saugkraft der Zellinhalte beruht also offenbar auf einer einmaligen Umsetzung, die durch das Pyramidon in den Zellinhalten ausgelöst wird. Haben jedoch die Zellinhalte ihr neues osmotisches Gleichgewicht gefunden und sich auf ihrem neuen, wasserreicheren Niveau stabilisiert, so verschwindet die zusätzliche Wasseraufnahme, und die gestrichelten Kurven fallen in Abb. 2 wieder auf die ursprüngliche Quote zurück.

Zu c): Die Erhöhung der Saugkraft der Zellinhalte wird durch eine Erhöhung der Pyramidongaben nicht mehr weiter gesteigert.

Bei den Pyramidonkonzentrationen von 10^{-7} und 10^{-6} molar ist noch keine pathologische Erhöhung der Saugkraft der Zellinhalte mit Sicherheit zu erkennen; es können zwar bei einigen Tomatensprossen gewisse Unregelmäßigkeiten in der Wasseraufnahme auftreten, ohne daß man aber, wenn nur diese Versuche vorliegen würden, mit Gewißheit etwas über die Wirkung des Pyramidons aussagen könnte.

Der deutliche, spezifische Wasseranreicherungs-Effekt des Pyramidons tritt vielmehr erst bei der Pyramidonkonzentration von 10^{-5} molar zutage; hier liegt somit die Wirkungsschwelle.

Die im Bereich der Wirkungsschwelle verabreichte Pyramidon menge beträgt rund 0,2 mg je kg Lebendgewicht; denn die Versuchspflanzen nahmen in Abb. 2 während der ersten Versuchsstunde durchschnittlich 0,9 ml der 10^{-5} molaren Pyramidonlösung auf, also rund 0,002 mg Pyramidon je Versuchssproß. Die Sprosse wogen ungefähr 10 g; deshalb wurden (unter der Voraussetzung, daß keine Abfiltrierung des Pyramidons durch die aufsaugenden Gewebe stattfand) rund 0,2 mg Pyramidon je kg Lebendgewicht aufgenommen.

Die im Bereich der Wirkungsschwelle verabreichte Pyramidon konzentration liegt ungefähr in der Größenordnung von 10^{-6} molar; denn die Tomatensprosse bestehen zu mindestens 80 % aus Wasser; wenn somit ein Tomatensproß von rund 10 g Lebendgewicht durchschnittlich 0,9 ml einer 10^{-5} molaren Pyramidonlösung aufnimmt, so muß sich die Pyramidonkonzentration im Innern der Gewebe (gleichmäßige Verteilung des Pyramidons über den gesamten Sproß vorausgesetzt) ungefähr in der Größenordnung von 10^{-6} molar bewegen.

Die Wirkungsschwelle des Pyramidons für Tomatensprosse liegt somit ungefähr bei einer Dosis von 0,2 mg je kg Lebendgewicht und bei einer Konzentration (im Innern der Gewebe) von rund 10^{-6} molar.

Wird von da weg die verabreichte Pyramidonmenge gesteigert, indem die Konzentration des applizierten Pyramidons von 10^{-5} molar auf 10^{-4}, 10^{-3} und 10^{-2} molar, also bis auf das Tausendfache, erhöht wird, so nimmt der saugkraftsteigernde Effekt des Pyramidons nicht mehr weiter zu; denn die gestrichelte Kurve verläuft in Abb. 2 bei der Konzentration von 10^{-2} molar auf ungefähr derselben Höhe wie bei der 1000fach schwächeren Konzentration von 10^{-5} molar.

Es erfolgen demnach in den Zellinhalten im Bereich der Wirkungsschwelle irgendwelche einmaligen saugkraftsteigernden Umsetzungen, die durch höhere Pyramidongaben nicht mehr weiter intensiviert werden können. Diese Deutung deckt sich mit der unter b) vorgeschlagenen Erklärung für den vorübergehenden Charakter der Saugkraftsteigerung.

Wird die Pyramidonkonzentration über die Quote von 10^{-2} molar hinaus gesteigert, so treten bei den Tomatensprossen manifeste Schädigungen auf; die obere Wirkungsgrenze des Pyramidons für Tomatensprosse liegt somit bei der Konzentration von 10^{-2} molar.

Die im Bereich dieser oberen Wirkungsgrenze verabreichte Pyramidonmenge, also die dosis toxica, beträgt rund 200 mg je kg Lebendgewicht; denn die Tomatensprosse nehmen in Abb. 2 während der ersten Versuchsstunde durchschnittlich rund 0,8 ml der 10^{-2} molaren Pyramidonlösung auf, also rund 2 mg, und dies entspricht, da die Sprosse durchschnittlich 10 g wogen, einer verabreichten Dosis von 200 mg je kg Lebendgewicht.

Die Pyramidonkonzentration, die im Bereich der oberen Wirkungsgrenze im Innern der Gewebe der Tomatensprosse wirksam ist, bewegt sich (wenn wir den gleichen Ansatz wie für die Bestimmung der Wirkungsschwelle verwenden dürfen) in der Größenordnung von rund 10^{-3} molar.

In dem weiten Intervall zwischen der Wirkungsschwelle (0,2 mg Pyramidon je kg Lebendgewicht, entsprechend einer globalen Konzentration im Innern der Gewebe von rund 10^{-6} molar) und der dosis toxica (200 mg Pyramidon je kg Lebendgewicht, entsprechend einer globalen Konzentration im Innern der Gewebe von rund 10^{-3} molar) erfolgt also in den Tomatensprossen keine Steigerung des physiologischen Effektes des Pyramidons.

Im Hinblick auf die menschliche Pharmakologie möchten wir uns überschlagsweise vergegenwärtigen, welche Pyramidonmengen unserem Körper zu therapeutischen Zwecken ungefähr zugeführt werden und welche Pyramidonkonzentration im Innern unserer Gewebe ungefähr wirksam sein mag.

Wir gehen von der folgenden Überschlagsrechnung aus. Wenn ein Mensch mit 70 kg Lebendgewicht 0,1—0,2 g Pyramidon zu sich nimmt, so entspricht dies, auf das Gesamtgewicht bezogen, rund einer Dosis von 2 mg je kg Lebendgewicht. Diese beim Menschen therapeutisch notwendige Dosis entspricht also größenordnungsmäßig ungefähr dem oberen Grenzwert der dosis tolerata bei den Tomatensprossen.

Wenn diese Menge von 0,1—0,2 g Pyramidon je Individuum von 70 kg vollständig resorbiert wird, so bewegt sich die Pyramidonkonzentration in unserer Körperflüssigkeit wahrscheinlich zwischen den zwei folgenden Grenzwerten.

a) Oberer Grenzwert. Zu einem oberen Grenzwert der Pyramidonkonzentration in unserer Körperflüssigkeit gelangen wir bei der Annahme einer minimalen Verdünnung des Pyramidons, also einer Sofortwirkung, bei der nur das Blutplasma als Träger dient. Der Wassergehalt des Blutes beträgt etwa 5 % des Körpergewichtes, also im Falle unseres Beispiels etwa 3,5 Liter. Bei einer Pyramidongabe von 0,1—0,2 g entsteht somit in der Blutflüssigkeit eine Pyramidonkonzentration zwischen 10^{-3} und 10^{-4} molar.

b) Unterer Grenzwert. Zum andern Berechnungsextrem gelangen wir durch Bezug des verabreichten Pyramidons auf die gesamte Körperflüssigkeit. Das intrazellulare Wasser mag etwa 50 % des Körpergewichtes betragen, die Gewebeflüssigkeit (Gewebespalten) etwa 15 % und die Blutflüssigkeit etwa 5 %. Falls somit das Pyramidon restlos und gleichmäßig im gesamten zur Verfügung stehenden Wasser verteilt und während dieser Zeit weder zerstört noch adsorbiert noch ausgeschieden würde, so müßten sich die 0,1—0,2 g Pyramidon auf 70 % von 70 kg verteilen, also auf rund 49 Liter, und dies würde in der gesamten Körperflüssigkeit zu einer Pyramidonkonzentration zwischen 10^{-4} und 10^{-5} molar führen.

Die Pyramidonkonzentration in der Flüssigkeit, die zum Wirkungsort des Pyramidons gelangt, liegt also beim Menschen wahrscheinlich in der Größenordnung von 10^{-3} bis 10^{-5} molar. Wie sich aber die selektive Resorption des Pyramidons am Erfolgsorte (und insbesondere am Erfolgsorte im Innern der sensibeln Zellen) gestaltet und wie hoch deshalb dort die wirklich wirksame Konzentration ist, entzieht sich sowohl beim Menschen als bei den Tomatensprossen unserer Kenntnis.

Überraschend ist immerhin, daß größenordnungsmäßig die Sensibilität des Menschen und die Sensibilität der Tomatensprosse für Pyramidon in einem ähnlichen Bereiche liegen:

Tomatensprosse. Dosis tolerata 0,2—200 mg Pyramidon je kg Lebendgewicht, entsprechend einer globalen Konzentration im Innern der Gewebe von 10^{-6} bis 10^{-3} molar.

Mensch. Dosis therapeutica 2 mg je kg Lebendgewicht, entsprechend einer Konzentration in der Körperflüssigkeit von 10^{-5} bis 10^{-3} molar.

Nur der Effekt, die physiologische Auswirkung, des Pyramidons ist möglicherweise bei den beiden Organismen verschieden:

Tomatensprosse. Vorübergehende Erhöhung der Saugkraft der Zellinhalte.

Mensch. Herabsetzung der Permeabilität der Zellmembran.

2. Kapitel

Die schädigende Wirkung des Pyramidons auf die Gewebe von roten Rüben

Einige Welketoxine und Antibiotica schädigen in den Geweben von roten Rüben („Randen", *Beta vulgaris rubra*) die Plasmagrenzschichten und das Plasma in einem Ausmaß, daß ein Teil des Anthocyans aus den Vakuolen durch das Plasma hindurch ins Freie tritt („Randentest"; Gäumann, Naef-Roth, Reusser und Ammann, 1952). Die Menge des ausgetretenen Anthocyans kann kolorimetrisch bestimmt werden und bildet einen Anhaltspunkt für die Giftigkeit der betreffenden Toxinlösungen.

Im Falle der vorliegenden Arbeit sollen mit Hilfe des Randentestes zwei Fragen beantwortet werden:

1. Wie groß ist der pathologische Austritt von Anthocyan während der Einwirkung verschieden konzentrierter Pyramidonlösungen, also in Gegenwart von Pyramidon? Und

2. wie groß ist die Nachwirkung des Pyramidons auf den Anthocyanaustritt, wenn die mit verschieden konzentrierten Pyramidonlösungen vorbehandelten Randengewebe nachher in dest. Wasser gebracht werden?

§ 1. Die Methode

Aus einer frischen Rande, die bei + 2° C aufbewahrt worden war, werden Scheibchen von 6,5 mm Durchmesser und 3 mm Dicke ausgestanzt und in bi-destilliertem Wasser ausgewaschen, bis aus den verletzten Zellen kein Farbstoff mehr austritt; dann werden die Scheibchen, um die Entwicklung von Bakterien zu verhindern, im Wasser liegend wieder auf + 2° C abgekühlt. Die zu testenden Pyramidonlösungen werden ebenfalls mit bi-destilliertem Wasser zubereitet und auf + 2° C gekühlt. Je 50 Scheibchen werden in 10 ml der zu testenden Pyramidonlösungen gebracht und während einer bestimmten Einwirkungszeit bei + 2° C aufgestellt. Weitere 50 Scheibchen werden als Kontrolle nur in bi-destilliertem Wasser aufbewahrt. Diesen ersten Versuchsabschnitt, der sich in verschieden konzentrierten Pyramidonlösungen abspielt, bezeichnen wir als die Exposition bzw. als die Expositionszeit.

Nach Ablauf der Expositionszeit werden die Scheibchen aus den Pyramidonlösungen herausgeholt, in bi-destilliertem Wasser gründlich abgespült (um eine unmittelbare Nachwirkung eventuell anhaftender Pyramidonreste

nach Möglichkeit auszuschalten), mit Filterpapier abgetrocknet, in 10 ml bidest. Wasser gelegt und 24 Stunden bei + 2° C aufbewahrt. Diesen zweiten Versuchsabschnitt, der sich in dest. Wasser abspielt, nennen wir die Diffusionszeit.

Nach Ablauf der 24 Stunden werden die Scheibchen aus dem dest. Wasser herausgeholt, und es wird nunmehr in den Pyramidonlösungen des ersten Versuchsabschnittes (die bei + 2° C aufbewahrt worden waren) und in den dest. Wasser-Proben des zweiten Versuchsabschnittes der Anthocyangehalt kolorimetrisch bestimmt und auf den gesamten Anthocyangehalt der 50 Scheibchen bezogen.

Für die Bestimmung dieses gesamten Anthocyangehaltes werden 50 Scheibchen (entsprechend einem Gewebevolumen von rund 5 ml) in einem Mörser mit Quarzsand völlig zerrieben, und das Anthocyan wird in 50 ml Wasser aufgenommen. Die Anthocyanmenge, die in 5 ml der so erhaltenen Lösung vorhanden ist, wird (da wir bei der Kolorimetrierung mit stark verdünnten Lösungen arbeiten müssen) zu 100 % gesetzt. Unsere Prozentzahlen sind somit, um nicht immer mit Dezimalen arbeiten zu müssen, zehnfach überhöht; deshalb kann der Anthocyanaustritt unter Umständen mehr als „100 %" betragen. Zum Schluß wird der Eigenwert der Kontrollflüssigkeit von der Intensitätszahl der zu testenden Lösungen abgezogen; die Differenz entspricht dem toxigen induzierten Anthocyanaustritt.

Wenn also aus den 50 Scheibchen einer bestimmten Rande während einer sechsstündigen Exposition 37,1 % Anthocyan in eine 10^{-4} molare Pyramidonlösung hinaustraten, aus 50 anderen Scheibchen derselben Rande während derselben Zeit nur 11,2 % in dest. Wasser hinaus, so setzen wir für die Expositionsperiode als toxigen bedingten Mehrwert 25,9 % ein. Und wenn während der folgenden 24 Stunden aus den Scheibchen, die mit der 10^{-4} molaren Pyramidonlösung vorbehandelt worden waren, noch weitere 21,3 % Anthocyan in das dest. Wasser hinaustreten, gegenüber nur 10,5 % bei den Scheibchen, die während der ersten sechs Stunden bloß in dest. Wasser gelegen hatten, so setzen wir für die Diffusionsperiode als toxigen bedingten Mehrwert 10,8 % ein.

Die Randenmethode arbeitet erstaunlich genau, sofern sämtliche Scheibchen einer bestimmten Versuchsgruppe von ein und derselben Rande stammen. Die Bewertungsskala muß deshalb für jede Rande gesondert aufgestellt werden; denn der Anthocyangehalt der Gewebe und der Farbton der Anthocyanlösungen schwanken unter Umständen von einem Individuum zum andern ganz beträchtlich.

In dem nun folgenden Abschnitt möchten wir die Frage besprechen: Welchen Einfluß besitzt, bei gleichbleibender Einwirkungszeit, die steigende Pyramidonkonzentration auf den Austritt von Anthocyan aus den Randengeweben?

§ 2. Der Einfluß steigender Pyramidonkonzentrationen auf den Austritt von Anthocyan aus den Randengeweben

Vor der Besprechung der eigentlichen Hauptversuche haben wir zwei Vorfragen zu klären, nämlich

a) besitzt Pyramidon in wachsender Konzentration einen unmittelbaren Einfluß auf den Farbton der Anthocyanlösungen? Und

b) besitzt die Veränderung des pH, das bei steigender Pyramidonkonzentration um einige Zehntel nach der alkalischen Richtung hin verschoben wird, einen unmittelbaren Einfluß auf den pathologischen Austritt des Anthocyans aus den Randengeweben?

Was zunächst den Einfluß der wachsenden Pyramidonkonzentrationen auf den Farbton der Anthocyanlösungen betrifft, so bleibt zu beachten, daß Pyramidon eine schwache Base ist. Manche Anthocyane ändern aber ihren Farbton mit einer Änderung des pH; ein großer Teil der Variationen der Blütenfarbstoffe beruht ja darauf, daß der Farbstoff einmal in ein saures, ein andermal in ein neutrales oder ein alkalisches Milieu eingelagert ist. Ferner lassen sich Anthocyane leicht oxydieren und reduzieren; Pyramidon ist ein schwaches Reduktionsmittel; somit können durch Reduktion der Randensäfte weniger stark absorbierende Farbstoffe entstehen.

Um die Möglichkeit derartiger Fehlerquellen praktisch zu prüfen, stellten wir von fünf Randen je einen Preßsaft her, gaben bei 2° C je 1 ml des filtrierten Preßsaftes

a) zu 10 ml dest. Wasser;
b) zu je 10 ml einer 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} bzw. 10^{-1} molaren Pyramidonlösung; und
c) zu je 10 ml einer 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} bzw. 10^{-1} molaren Mannitlösung,

und bestimmten gleich zu Anfang und dann wieder nach 24 Stunden kolorimetrisch den Anthocyangehalt und elektrometrisch das pH; der Anthocyangehalt in 11 ml wässeriger Lösung wurde zu 100 % gesetzt. Mannit wurde mit in den Versuch einbezogen, um eine chemisch inerte Parallele zur Pyramidonreihe zu haben.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 für jede Rande und jede Konzentration einzeln dargestellt, um einen Einblick in den Gang und die Tragfähigkeit der Randenmethode zu vermitteln. In den letzten Spalten sind die Mittelwerte aus den fünf zusammengehörenden Einzelwerten aufgeführt.

Die Einzelwerte für den Anthocyangehalt liegen für sämtliche Randen und für sämtliche Verfahren zwischen 86 und 106 %. Die Mittelwerte aus den je fünf zusammengehörenden Einzelwerten bewegen sich dagegen bloß zwischen 96 und 100 %. Schon die Mittelwerte für die Preßsäfte aus fünf Randen sind somit weitgehend ausgeglichen; dennoch werden wir in den Hauptversuchen mit Mittelwerten aus je zehn Randen arbeiten, weil

Tabelle 1 Die Veränderungen des Farbtones und des pH von verschieden konzentrierten

1 ml Randenpreßsaft plus 10 ml	Rande Nr. 1				2				3			
	Anthocyangehalt		pH		Anthocyangehalt		pH		Anthocyangehalt		pH	
	Anfang %	Ende %	Anfang	Ende	Anfang %	Ende %	Anfang	Ende	Anfang %	Ende %	Anfang	Ende
H_2O	97	96	6,4	6,4	92	93	6,4	6,4	102	102	6,3	6,4
Pyramidon												
10^{-5} molar	94	94	6,3	6,4	97	98	6,4	6,4	98	99	6,3	6,4
10^{-4} molar	94	92	6,4	6,4	99	98	6,4	6,5	102	102	6,3	6,4
10^{-3} molar	87	86	6,4	6,4	92	94	6,4	6,4	101	100	6,3	6,4
10^{-2} molar	95	95	6,5	6,6	100	101	6,5	6,7	101	102	6,5	6,6
10^{-1} molar	93	94	6,9	7,1	97	97	6,9	7,1	98	98	6,8	7,0
Mannit												
10^{-5} molar	97	96	6,3	6,4	95	97	6,4	6,5	103	102	6,3	6,4
10^{-4} molar	94	95	6,3	6,4	96	98	6,4	6,5	99	99	6,3	6,4
10^{-3} molar	93	94	6,4	6,4	97	98	6,4	6,4	101	100	6,2	6,3
10^{-2} molar	96	96	6,3	6,4	94	96	6,4	6,5	101	101	6,3	6,4
10^{-1} molar	92	94	6,4	6,4	96	97	6,4	6,5	99	100	6,3	6,4

sich bei diesen Hauptversuchen die Streuungen und die Methodenfehler nicht nur auf das Verhalten des freigesetzten Anthocyans erstrecken, sondern überdies auch auf den Austritt des Anthocyans aus den Randengeweben ins Freie.

Im übrigen läßt Tabelle 1 erkennen, daß Pyramidon und Mannit in den verabreichten Mengen den Farbton der Randenanthocyan-Lösungen nicht in meßbarer Weise verändern. Wenn also in unseren späteren Versuchen Veränderungen in der Farbintensität der Anthocyanlösungen auftreten, so beruhen sie tatsächlich auf Veränderungen der Menge des ins Freie getretenen Anthocyans und nicht etwa auf pyramidonbedingten Änderungen des Absorptionsvermögens der Anthocyanlösungen.

Weniger einheitlich verhält sich, wie zu erwarten war, in Tabelle 1 bei steigender Pyramidonkonzentration die aktuelle Azidität der Randenpreßsaft-Lösungen. Eine 10^{-4} molare Pyramidonlösung besitzt ein pH von 7,3, eine 10^{-3} molare Lösung ein solches von 7,35, eine 10^{-2} molare Lösung ein pH von 7,5 und eine 10^{-1} molare Lösung ein pH von 7,9. Es kann deshalb nicht überraschen, daß sich das Pufferungsvermögen der Randenpreßsäfte mit steigender Pyramidonkonzentration allmählich erschöpft und daß in Tabelle 1 die Azidität der Preßsaft-Pyramidon-Gemische von pH 6,3—6,4 im natürlichen Preßsaft auf durchschnittlich 6,5 bei einer 10^{-3} molaren, pH 6,6 bei einer 10^{-2} molaren und pH 7,1 bei einer 10^{-1} molaren Pyramidonkonzentration ansteigt.

von Randen-Preßsaft unter der Einwirkung *Tabelle 1*
Pyramidon- bzw. Mannitlösungen

Rande Nr. 4				Rande Nr. 5				Mittelwerte aus sämtlichen 5 Randen				1 ml Randenpreßsaft plus 10 ml
Anthocyangehalt		pH		Anthocyangehalt		pH		Anthocyangehalt		pH		
Anfang %	Ende %	Anfang	Ende	Anfang %	Ende %	Anfang	Ende	Anfang %	Ende %	Anfang	Ende	
99	98	6,4	6,4	99	98	6,3	6,4	98	97	6,4	6,4	H_2O
												Pyramidon
101	101	6,4	6,5	100	99	6,4	6,4	98	98	6,4	6,4	10^{-5} molar
99	98	6,4	6,5	102	102	6,3	6,4	99	98	6,3	6,4	10^{-4} molar
102	101	6,5	6,5	99	98	6,4	6,4	96	96	6,4	6,5	10^{-3} molar
100	99	6,5	6,7	98	98	6,6	6,6	99	99	6,5	6,6	10^{-2} molar
101	101	6,9	7,1	101	100	6,9	7,0	98	98	6,9	7,1	10^{-1} molar
												Mannit
106	105	6,4	6,5	98	100	6,3	6,4	100	100	6,3	6,4	10^{-5} molar
97	97	6,4	6,4	97	99	6,3	6,4	97	98	6,3	6,4	10^{-4} molar
102	101	6,4	6,5	99	99	6,3	6,4	98	98	6,3	6,4	10^{-3} molar
102	102	6,4	6,5	100	101	6,4	6,4	99	99	6,4	6,4	10^{-2} molar
100	99	6,5	6,5	98	98	6,4	6,4	97	97	6,4	6,4	10^{-1} molar

Für das hier zur Diskussion stehende Problem der Farbtönung der Anthocyanlösungen ist diese kleine Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration bedeutungslos; denn Tabelle 1 zeigt ja, daß der Randenpreßsaft in dem von uns geprüften Pyramidon-Konzentrationsbereich seine Farbtönung nicht ändert; dagegen hat die Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration von pH 7,3 bei einer 10^{-4} molaren auf pH 7,9 bei einer 10^{-1} molaren Pyramidonlösung zur Folge, daß in den gleich zu besprechenden Hauptversuchen die Randen-Gewebestückchen mit steigender Pyramidonkonzentration jeweils in Lösungen von schwach ansteigendem pH zu liegen kommen.

Die zweite Vorfrage muß deshalb lauten: Ändert sich bei einer gegebenen Pyramidonkonzentration der pathologische Austritt von Anthocyan aus den Randengeweben, wenn das pH der Pyramidonlösung von 7,3 auf 8,3 verschoben wird?

Eine 10^{-3} molare Pyramidonlösung wurde mit Phosphatpuffer (Na_2HPO_4 und KH_2PO_4) auf die acht in Tabelle 2 genannten pH-Stufen eingestellt. Als Kontrollen dienten überdies eine 10^{-3} molare Mannitlösung (eingestellt auf pH 7,11) und zwei Phosphatpufferlösungen von pH 7,15 und 7,60.

Da in dem betreffenden Augenblicke unser Vorrat an normalen Randen erschöpft war und wir zur Abklärung der vorliegenden Frage nicht eine neue Vegetationszeit abwarten wollten, so führten wir die Versuche der Tabelle 2 mit einer anderen Randensorte durch als üblich; die Werte für den Anthocyan-

Tabelle 2

Der Einfluß des pH auf den Austritt von Anthocyan aus den Randengeweben während der Einwirkung einer 10^{-3} molaren Pyramidonlösung

Versuch Nr.	Pyramidon 10^{-3} molar bei einem pH von								Mannit pH 7,11	Phosphatpuffer	
	7,30 %	7,41 %	7,50 %	7,70 %	7,80 %	7,90 %	8,20 %	8,35 %	%	pH 7,15 %	pH 7,60 %
1	7,8	7,5	7,3	7,5	7,5	7,8	7,5	8,0	−0,5	0	−0,5
2	7,3	7,5	7,5	7,5	7,0	7,5	7,3	7,5	−0,8	0	0
3	8,3	8,3	7,0	7,5	7,0	8,0	7,0	8,3	−0,3	0,3	−0,3
4	8,3	—	8,3	7,0	8,3	8,3	8,3	8,3	0,3	0	0
5	15,3	15,5	15,0	13,8	12,5	15,0	15,0	14,5	−4,5	1,3	1,3
6	15,0	12,5	13,8	11,3	12,5	13,3	10.8	12,5	−5,0	0	0
7	10,0	10,0	10,0	7,5	10.0	10,0	8,3	8,8	−5,0	0	−1,3
8	8,3	7,5	10,0	8,3	7,3	6,3	7,5	7,5	0	0	1,3
Mittel	10,0	9,8	9,9	8,8	9,0	9,5	9,0	9,4	−2,3	0,2	0,1

austritt sind deshalb in Tabelle 2 erheblich kleiner als sonst in dieser Arbeit und mit den Werten der Tabellen 3, 4 usw. nicht ohne weiteres vergleichbar.

Immerhin läßt Tabelle 2 erkennen, daß das pH in dem von uns geprüften Bereich (7,3—8,4) keinen Einfluß auf den Austritt von Anthocyan aus den Randengeweben besitzt; denn die mittleren Prozentzahlen für den Anthocyanaustritt schwanken regellos zwischen 9,0 und 10,0 %. Desgleichen besteht (was wir aus Gründen der Raumökonomie hier nicht mit Zahlen belegen) in der Nachwirkung des Pyramidons, also während der auf die Behandlung folgenden 24 Stunden im dest. Wasser, kein Einfluß des während der vorangegangenen Behandlung verschiedenen pH.

Wir dürfen somit aus den beiden Vorversuchen den Schluß ziehen, daß die steigenden Pyramidonkonzentrationen in dem von uns geprüften Bereich weder auf die Farbtönung der Anthocyanlösungen noch auf die Menge des aus den Randengeweben austretenden Anthocyans einen unmittelbaren Einfluß ausüben. Veränderungen in der Farbintensität der Anthocyanlösungen dürfen deshalb unmittelbar mit entsprechenden Veränderungen in der Menge des ausgetretenen Anthocyans gleichgesetzt werden.

Nach dieser Abklärung der methodischen Voraussetzungen treten wir an die Besprechung der eigentlichen Hauptversuche heran; dabei beschränken wir uns auf zwei Versuchsreihen, nämlich eine Versuchsreihe mit einer sechsstündigen und eine Versuchsreihe mit einer 24stündigen Einwirkung von verschieden konzentrierten Pyramidonlösungen.

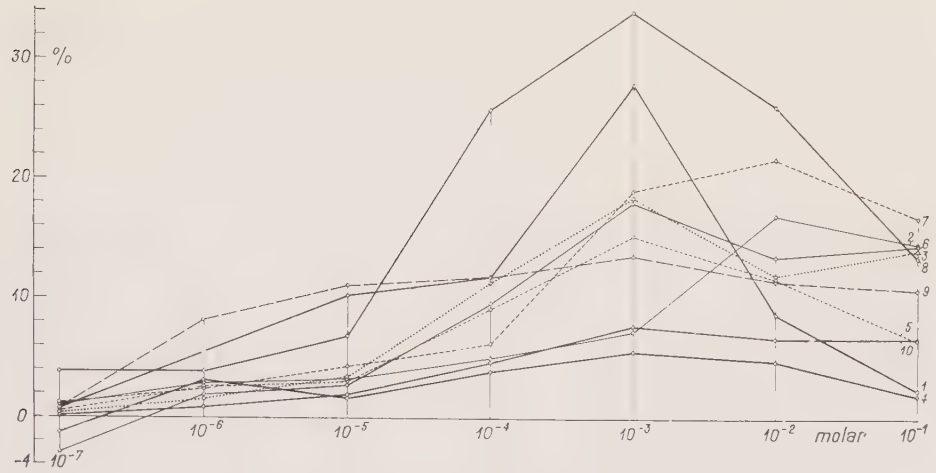


Abb. 4. Der pathologische Austritt von Anthocyan aus den Geweben von roten Randen während einer sechsstündigen Einwirkung von verschieden konzentrierten Pyramidonlösungen

Abszisse: Konzentration der Pyramidonlösung. Die Ordinate gibt an, wieviel Anthocyan bei der betreffenden Pyramidonkonzentration mehr bzw. weniger aus den Randengeweben ins Freie getreten ist als in dest. Wasser; die Zahlen 1 bis 10 entsprechen den zehn Parallelen, die je mit einer anderen Rande durchgeführt wurden

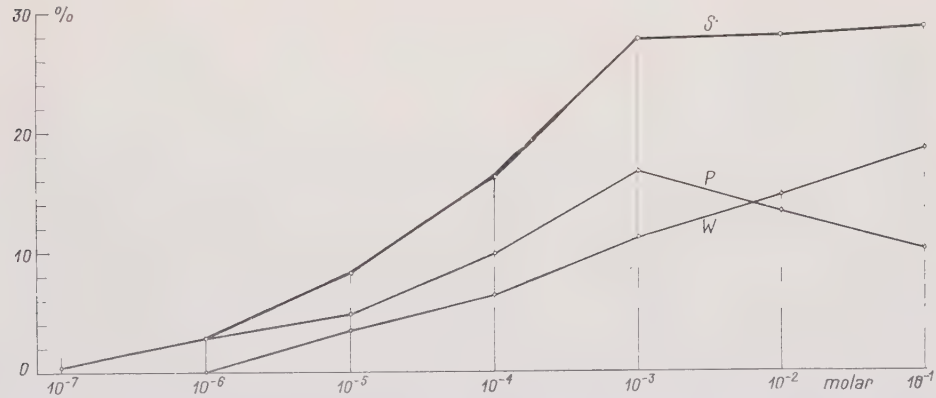


Abb. 5. Der durchschnittliche Austritt von Anthocyan aus den Geweben von roten Randen während der sechsstündigen Einwirkung von verschieden konzentrierten Pyramidonlösungen.

Abszisse: Konzentration der Pyramidonlösungen. Die Ordinate gibt im Falle der Kurve *P* an, wieviel Anthocyan während der sechsstündigen Exposition durchschnittlich mehr in die Pyramidonlösungen hinaustrat als in dest. Wasser (Mittel aus den zehn Kurven der Abb. 4). Im Falle von Kurve *W* gibt die Ordinate an, wieviel Anthocyan nach der sechsstündigen Behandlung mit der betr. Pyramidonkonzentration durchschnittlich mehr in dest. Wasser hinaustrat als nach einer sechsstündigen Vorbehandlung nur mit dest. Wasser. Die Kurve *S* gibt die Summe der Kurven *P* und *W* wieder, also den Gesamtbetrag des während der gesamten Versuchszeit aus den Randengeweben ins Freie getretenen Anthocyans

4. Versuchsreihe

Versuchsfrage: Welchen Einfluß besitzt Pyramidon in den Konzentrationen von 10^{-7} bis 10^{-1} molar bei sechsstündiger Ein-

wirkung auf den Austritt von Anthocyan aus den Geweben von roten Randen, a) während der unmittelbaren Einwirkung des Pyramidons, und b) nach der Behandlung mit Pyramidon?

Je 50 Gewebescheibchen wurden entsprechend der soeben geschilderten Methode zunächst sechs Stunden in 10 ml von Pyramidonlösungen zwischen 10^{-7} und 10^{-1} molar gelegt, dann gewaschen, getrocknet und hernach für 24 Stunden in 10 ml dest. Wasser gebracht. Um einen Eindruck von dem Streuungsfeld zu geben, haben wir in Abb. 4 für jede einzelne Rande die Anthocyanmenge, die während der sechs Stunden in die Pyramidonlösung hinaustrat, semilogarithmisch abgetragen. In Abb. 5 wurden sodann die eigentlichen Versuchsergebnisse dargestellt, nämlich die arithmetischen Mittel aus den je zehn Einzelversuchen. Aus diesen zwei Abbildungen ergibt sich folgendes:

a) Der Anthocyanaustritt während der Expositionszeit, also in Gegenwart von freiem Pyramidon

1. Die Willigkeit, mit der die verschiedenen Randen ihr Anthocyan unter der Einwirkung des Pyramidons ins Freie treten lassen, ist verschieden.

Bei der Pyramidonkonzentration von 10^{-7} molar ist der Anthocyanaustritt in Abb. 4 bei einzelnen Randen schwach positiv (d. h. es tritt mehr Anthocyan in die Pyramidonlösung hinaus als in dest. Wasser), bei andern Randen schwach negativ (d. h. es tritt weniger Anthocyan in die Pyramidonlösung hinaus als in dest. Wasser).

Ähnliche Unterschiede bestehen hinsichtlich des maximalen Ausmaßes für den Anthocyanaustritt. Bei der Rande Nr. 4 liegt in Abb. 4 der Kulminationspunkt bei 5,5 %, bei der Rande Nr. 8 bei 34,1 %, also rund sechsmal so hoch. Da die Menge des ins Freie tretenden Anthocyans für jede Rande gesondert auf ihren eigenen Anthocyangehalt bezogen wurde, so hängt der Schwankungsbereich von 5,5 bis 34,1 % nicht mit einem unterschiedlichen Anthocyangehalt der Randengewebe zusammen, sondern wirklich mit einer unterschiedlichen Pyramidonempfindlichkeit der verschiedenen Randen, also mit einer unterschiedlichen Reaktionsbereitschaft oder einer unterschiedlichen Reaktionsfähigkeit der verschiedenen Randen.

2. Die Anthocyanmenge, die während der sechsstündigen Einwirkung des Pyramidons (also in Gegenwart von freiem Pyramidon) aus den Randengeweben ins Freie tritt, wächst nicht stetig mit der Konzentration, sondern durchläuft eine Optimumkurve.

Von der Konzentration von 10^{-7} molar weg nimmt in Abb. 5, Kurve *P*, der durchschnittliche Anthocyanaustritt in einem ersten Kurvenabschnitt, zwischen den Konzentrationen von 10^{-7} bis 10^{-3} molar, mit wachsender Pyramidonkonzentration zu und steigt von durchschnittlich 0,4 % in der 10^{-7} molaren Pyramidonlösung auf durchschnittlich 16,7 % in der 10^{-3} molaren Pyramidonlösung (progressiver Abschnitt).

Dieser Anstieg erfolgt (bei semilogarithmischer Darstellung) nicht geradlinig und auch nicht, wie häufig bei Pharmaka, konkav zur x-Achse, sondern schwach konvex zur x-Achse, also von der x-Achse weg.

Bei der Pyramidonkonzentration von 10^{-3} molar durchläuft der Anthocyanaustritt in der Kurve *P* der Abb. 5 einen Höhe- und Umschlagspunkt. Diese eindeutige Lage des Umschlagspunktes gilt jedoch nur für den Durchschnitt aus den zehn Randen. Betrachten wir die einzelnen Randen individuell, so verschiebt sich der Umschlagspunkt gelegentlich um eine Zehnerpotenz; so zeigen in Abb. 4 acht Randen den Umschlag bei der Pyramidonkonzentration von 10^{-3} molar, zwei Randen (Nr. 2 und Nr. 7) den Umschlag bei 10^{-2} molar. Die Tatsache des Umschlages, daß die Menge des ins Freie tretenden Anthocyans bei einer bestimmten Pyramidonkonzentration ein Maximum erreicht, gilt somit für sämtliche Randen; nur die genaue Lage des Umschlagspunktes kann sich von einer Rande zur andern etwas verschieben.

Auf den Höhe- bzw. Umschlagspunkt folgt bei der Kurve *P* zwischen den Pyramidonkonzentrationen von 10^{-3} bis 10^{-1} molar der zweite Kurvenabschnitt, in welchem der Anthocyanaustritt mit steigender Pyramidonkonzentration nicht weiter zu-, sondern abnimmt; bei einer Zunahme der Pyramidonkonzentration über 10^{-3} molar hinaus diffundiert somit immer weniger Anthocyan in die Pyramidonlösungen hinaus (regressiver Abschnitt). Bei der Pyramidonkonzentration von 10^{-1} molar ist dementsprechend der Anthocyanaustritt mit durchschnittlich 10,2 % wieder gleich hoch (Tabelle 3), wie er bei der 1000mal stärkeren Verdünnung (10^{-4} molar mit 9,9 %) war.

Im regressiven Ast wird also nur ein Teil der früher ausgelösten Übersteigerung der Permeabilität rückgängig gemacht; in summa bleibt die Permeabilität der Randengewebe immer noch übersteigert, sie sinkt nicht mehr auf oder unter das normale, ungestörte Permeabilitätsniveau zurück. Wenn man somit den regressiven Ast als den Ausdruck einer „abdichtenden" Wirkung des Pyramidons deuten wollte, so vermag dieser späte abdichtende Effekt die vorangehende pathologische Übersteigerung der Permeabilität nur noch zu mildern, aber nicht mehr aufzuheben.

b) Der Anthocyanaustritt nach der Behandlung mit Pyramidon, also in Nachwirkung des Pyramidons

3. Wird das an den Randengeweben haftende Pyramidon sorgfältig entfernt (bloßes Abtrocknen der Scheibchen ohne vorheriges gründliches Auswaschen genügt also nicht), so gestaltet sich der Anthocyanaustritt in das dest. Wasser hinaus (also in Abwesenheit von freiem Pyramidon) völlig anders als während der ersten Phase in die Pyramidonlösungen hinaus (also in Gegenwart von freiem Pyramidon). Bei sämtlichen Randen wächst nämlich der Anthocyanaustritt in das dest. Wasser hinaus im selben

Maß, wie die Konzentration der für die Vorbehandlung verwendeten Pyramidonlösung zunimmt. Bei der Vorbehandlung mit den Pyramidonlösungen von 10^{-7} und 10^{-6} molar erfolgt noch keine meßbare Nachwirkung, d. h. der Anthocyanaustritt ist bei den Versuchsscheibchen gleich groß wie bei den nur mit dest. Wasser vorbehandelten Kontrollen. Eine meßbare Nachwirkung zeigt sich erst bei der Vorbehandlung der Gewebestücke mit einer 10^{-5} molaren Pyramidonlösung; hier beträgt (Abb. 5, Kurve *W*) der toxigen ausgelöste Anthocyanaustritt in das dest. Wasser hinaus durchschnittlich 3,5 %. Von da an steigt er (bei semilogarithmischer Darstellung) mit zunehmender Konzentration der Pyramidonlösung geradlinig bis auf 18,6 % bei der Vorbehandlung mit einer 10^{-1} molaren Pyramidonlösung.

4. Die Gesamtmenge des während der 30stündigen Versuchsdauer ins Freie tretenden Anthocyans (Kurve *S* der Abb. 5 = Kurve *P* + Kurve *W*) erreicht bei den Konzentrationen von 10^{-3} bis 10^{-1} molar einen gleichmäßigen Betrag von rund 28 %. Es scheint, als ob bei einer 30stündigen Versuchsdauer nicht mehr als diese Anthocyanmenge aus den Geweben ins Freie diffundieren könnte; nur der Anteil des Anthocyans, der in Gegenwart oder in Nachwirkung des Pyramidons ins Freie tritt, ist verschieden; der Betrag, der in Gegenwart des Pyramidons ins Freie tritt, nimmt bei den Konzentrationen von 10^{-3} bis 10^{-1} molar ab; der Betrag, der in Nachwirkung des Pyramidons ins Freie tritt, nimmt dagegen im selben Bereich in entsprechender Weise zu.

Der Kurvenverlauf der Abb. 5: Optimumkurve für den Anthocyanaustritt in Gegenwart von freiem Pyramidon, linearer Anstieg des Anthocyanaustrittes in Nachwirkung des Pyramidons, ist derart seltsam, daß wir die vierte Versuchsreihe mit neuen zehn Randen wiederholten, nur diesmal mit einer 24stündigen Expositionszeit.

5. Versuchsreihe

Versuchsfrage: Welchen Einfluß besitzt Pyramidon in den Konzentrationen von 10^{-7} bis 10^{-1} molar bei 24stündiger Einwirkung auf den Anthocyanaustritt aus den Geweben von roten Randen, a) während der unmittelbaren Einwirkung des Pyramidons und b) nach der Behandlung mit Pyramidon.

Diese fünfte Versuchsreihe wurde in gleicher Weise durchgeführt wie die vorangehende vierte Reihe, nur mit dem Unterschied, daß die Gewebescheibchen während 24 Stunden in der Pyramidonlösung und dann für 24 Stunden in dest. Wasser belassen wurden. Die Ergebnisse sind in Abb. 6 veranschaulicht.

a) Der Anthocyanaustritt während der Expositionszeit, also in Gegenwart von freiem Pyramidon

1. Wenn die Expositionszeit von 6 auf 24 Stunden verlängert wird, so steigt die Menge des in die Pyramidonlösungen hinaustretenden Antho-

cyans im Mittel der sieben Pyramidonkonzentrationen von 8,3 % auf 18,4 %, also auf reichlich das Doppelte. Die Willigkeit, mit der die verschiedenen Randen ihr Anthocyan unter der Einwirkung des Pyramidons ins Freie treten lassen, gleicht sich aber auch bei 24stündiger Einwirkung des Pyramidons nicht aus, sondern der Anthocyanaustritt schwankt immer noch ebenso stark wie bei der sechsstündigen Einwirkung des Pyramidons: bei der Rande Nr. 4 lag z. B. der Kulminationspunkt bei 11,9 %, bei der Rande Nr. 10 bei 81,8 %.

2. Die Anthocyanmenge, die während der unmittelbaren Einwirkung des Pyramidons (also in Gegenwart von freiem Pyramidon) aus den Randengeweben ins Freie tritt, wächst auch bei 24stündiger Einwirkung des Pyramidons, wie bei sechsstündiger Einwirkung, nicht stetig mit der Konzentration, sondern durchläuft ein Optimum.

Der erste Abschnitt der Kurve *P* hebt in Abb. 6 bei der Pyramidonkonzentration von 10^{-7} molar mit einem negativen Wert an: — 2,9 %,

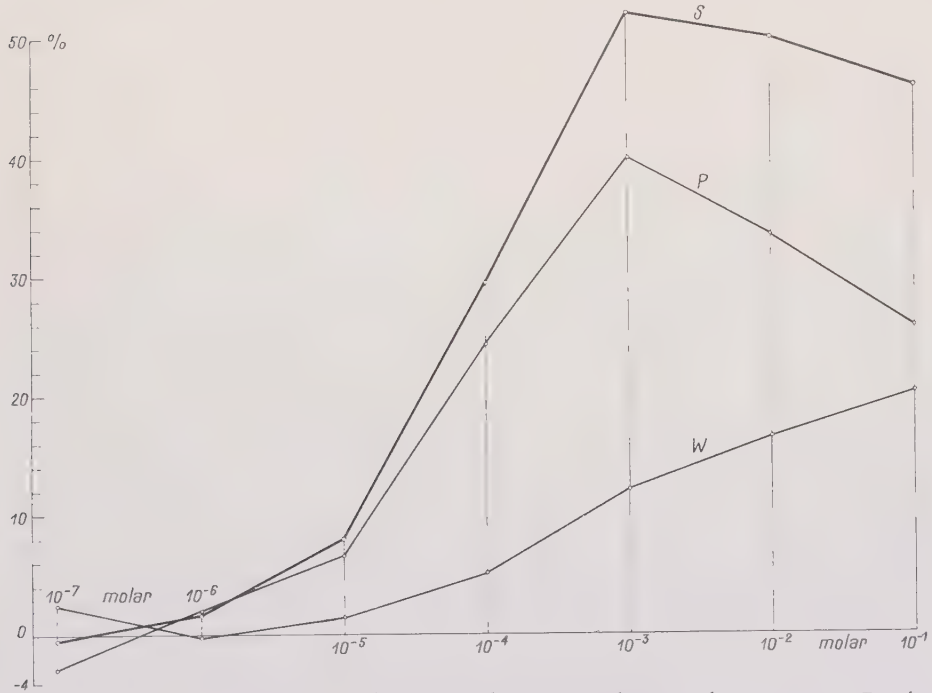


Abb. 6. Der durchschnittliche Austritt von Anthocyan aus den Geweben von roten Randen während der 24stündigen Einwirkung von verschieden konzentrierten Pyramidonlösungen.

Abszisse: Konzentration der Pyramidonlösungen. Die Ordinate ergibt im Falle der Kurve *P* an, wieviel Anthocyan während der 24stündigen Exposition durchschnittlich mehr in die Pyramidonlösungen hinaustrat als in dest. Wasser. Im Falle der Kurve *W* gibt die Ordinate an, wieviel Anthocyan nach der 24stündigen Behandlung mit der betr. Pyramidonkonzentration mehr in dest. Wasser hinaustrat als nach einer 24stündigen Vorbehandlung nur mit dest. Wasser. Die Kurve *S* gibt die Summe der Kurven *P* und *W* wieder, also den Gesamtbetrag des während der gesamten Versuchszeit aus den Randengeweben ins Freie getretenen Anthocyans

d. h. es tritt bei dieser Konzentration in Gegenwart von Pyramidon weniger Anthocyan ins Freie als bei den parallelen Gewebescheibchen, die bloß in dest. Wasser liegen. Von da weg steigt die Kurve *P* (bei semilogarithmischer Darstellung) konvex zur x-Achse an, also in einer ähnlichen Anomalie wie in Abb. 5 bei der sechsstündigen Einwirkung des Pyramidons, bis auf durchschnittlich 39,9 % bei der Pyramidonkonzentration von 10^{-3} molar.

Bei der Pyramidonkonzentration von 10^{-3} molar durchläuft die Kurve *P*, wie bei der sechsstündigen Einwirkung des Pyramidons, wieder einen Höhe- und Umschlagspunkt; dieser liegt mit durchschnittlich 39,9 % mehr als doppelt so hoch als bei der sechsstündigen Einwirkung des Pyramidons (16,7 %). Und wie bei der sechsstündigen Einwirkung, so gilt auch bei der 24stündigen Einwirkung des Pyramidons diese eindeutige Lage des Umschlagspunktes bei 10^{-3} molar nur für das arithmetische Mittel aus den zehn Randen; für neun Randen liegt nämlich der Umschlagspunkt bei 10^{-3} molar, für eine Rande (Nr. 1) bei 10^{-2} molar. Auch bei 24stündiger Einwirkung des Pyramidons kann sich somit die genaue Lage des Umschlagspunktes um eine Zehnerpotenz verschieben; unverrückbar ist nur die Tatsache der Änderung des Kurvensinnes.

Tabelle 3

Der durchschnittliche Austritt von Anthocyan aus den Randengeweben in die Pyramidonlösungen hinaus

Einwirkungsdauer der Pyramidonlösungen (Versuchsdauer)	Molarität der Pyramidonlösungen				
	10^{-5} %	10^{-4} %	10^{-3} %	10^{-2} %	10^{-1} %
6 Stunden	4,8	9,9	16,7	13,4	10,2
24 Stunden	6,5	24,3	39,9	33,6	25,8

Im zweiten Abschnitt der Kurve *P*, bei den Pyramidonkonzentrationen von 10^{-3} bis 10^{-1} molar, sinkt der Anthocyanaustritt in Abb. 6 auch bei 24stündiger Einwirkung des Pyramidons, wie bei sechsstündiger Einwirkung, mit wachsender Pyramidonkonzentration auf rund zwei Drittel hinab (Tabelle 3) und liegt bei der 10^{-1} molaren Pyramidonlösung mit 25,8 % ungefähr gleich hoch, wie er bei der 1000mal stärkeren Verdünnung (10^{-4} molar; 24,3 %) gewesen ist.

b) Der Anthocyanaustritt nach der Behandlung mit Pyramidon, also in Nachwirkung des Pyramidons

3. Wie in Abb. 5 nach der sechsstündigen Exposition, so nimmt der Anthocyanaustritt in das dest. Wasser hinaus auch in Abb. 6, Kurve *W*, nach 24stündiger Exposition mit steigender Konzentration der für die Vorbehandlung verwendeten Pyramidonlösungen (bei semilogarithmischer Darstellung)

ungefähr geradlinig zu, abgesehen von einer belanglosen Störung im Bereich der Pyramidonkonzentrationen von 10^{-7} und 10^{-6} molar.

Der absolute Wert des in das dest. Wasser hinaustretenden Anthocyans ist jedoch in Abb. 6, Kurve *W*, nach 24stündiger Vorbehandlung mit Pyramidon gleich groß wie in Abb. 5, Kurve *W*, nach sechsstündiger Vorbehandlung; so treten nach einer 24stündigen Vorbehandlung mit einer 10^{-1} molaren Pyramidonlösung in Abb. 6 durchschnittlich 20,2 % Anthocyan in das dest. Wasser hinaus, in Abb. 5 nach einer sechsstündigen Vorbehandlung mit derselben Pyramidonkonzentration 18,6 %. Im Gegensatz zur Steigerung des Anthocyanaustrittes während einer verlängerten Einwirkung des Pyramidons (Kurve *P* der Abb. 5 und 6) wird durch eine längere Vorbehandlung mit Pyramidon der Nachwirkungseffekt des Pyramidons (Kurve *W* der Abb. 5 und 6) nicht verstärkt; deshalb verläuft die Kurve *W* in der Abb. 5 teilweise oberhalb, in Abb. 6 stets unterhalb der Kurve *P*.

4. Die Gesamtmenge des während der gesamten Versuchsdauer ins Freie tretenden Anthocyans (Kurve *S* der Abb. 6) erreicht auch bei 24stündiger Vorbehandlung, wie in Abb. 5 nach sechsstündiger Vorbehandlung, im Bereich der Pyramidonkonzentrationen von 10^{-3} bis 10^{-1} molar einen gleichmäßigen Betrag, der offenbar in irgendeiner Weise einen Maximalbetrag darstellt; nur liegt er entsprechend der längeren Versuchsdauer erheblich höher, nämlich bei 46 bis 50 % gegenüber rund 28 % bei einer nur 30stündigen Versuchsdauer. Wir möchten deshalb vermuten, daß er in Funktion zur Gewebetiefe steht, bis zu der das Pyramidon während der Versuchszeit in den Gewebestückchen vorzudringen und wirksam zu werden vermag.

Die 4. und 5. Versuchsreihe (Abb. 5 und 6) stimmen im allgemeinen Verlauf der Kurven *P* und *W* miteinander überein; wesentlich verschieden ist nur der Ansatzpunkt der Kurve *P* bei der Pyramidonkonzentration von 10^{-7} molar. Wenn wir nämlich die Kurve *P* von rechts nach links lesen, also im Sinne einer zunehmenden Verdünnung der Pyramidonlösungen, so endet sie in der Abb. 5 ungefähr auf der x-Achse, d. h. es tritt während der sechsstündigen Einwirkung der 10^{-7} molaren Pyramidonlösung ungefähr gleich viel Anthocyan in die Pyramidonlösung hinaus wie bei den Gewebescheibchen, die bloß in dest. Wasser liegen; denn der mittlere Wert von + 0,4 % bewegt sich im Bereich des Material- und Methodenfehlers.

Während der 24stündigen Einwirkung tritt jedoch in der Kurve *P* der Abb. 6 mit durchschnittlich — 2,9 % etwas weniger Anthocyan in die 10^{-7} molare Pyramidonlösung hinaus als in dest. Wasser; es wäre somit nicht ausgeschlossen, daß das Pyramidon bei 24stündiger Einwirkung in diesem Konzentrationsbereich den gesuchten abdichtenden Effekt auf die Randengewebe besitzt. Wir fragen uns deshalb in der nun folgenden sechsten Versuchsreihe: Wie gestaltet sich der Austritt von Anthocyan aus den Randengeweben in noch stärker verdünnten Pyramidonlösungen? Beruht der negative Wert bei 10^{-7} molar in Abb. 6 auf einem Zufall oder hat er einen tieferen Sinn?

6. Versuchsreihe

Versuchsfrage: Welchen Einfluß besitzt Pyramidon in den Konzentrationen von 10^{-6} bis 10^{-12} molar bei 24stündiger Einwirkung auf den Austritt von Anthocyan aus den Geweben von roten Randen, a) während der unmittelbaren Einwirkung des Pyramidons und b) nach der Behandlung mit Pyramidon.

Diese sechste Versuchsreihe ist gleich angeordnet wie die vorangehende fünfte, nur daß die Pyramidonlösungen noch bis 100000mal stärker verdünnt wurden.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Leider sind die Schwankungen sehr groß, und zwar sowohl beim Austritt von Anthocyan in die Pyramidonlösungen hinaus (also in Gegenwart von freiem Pyramidon) als in den nachfolgenden 24 Stunden in das dest. Wasser hinaus (also in Nachwirkung des Pyramidons); denn der Anthocyangehalt der Lösungen ist derart gering, daß wir uns im Grenzbereich der Meßmöglichkeit bewegen und zuweilen das Kolorimeter um eine volle Umdrehung bewegen können, ehe mit Sicherheit ein Unterschied festzustellen ist.

Tabelle 4

Der Einfluß von Pyramidon in den Konzentrationen von 10^{-6} bis 10^{-12} molar auf den Austritt von Anthocyan aus den Geweben von roten Randen
(Durchschnitt aus je zehn Einzelversuchen)

Konzentration der Pyramidonlösung molar	Anthocyanaustritt während der ersten 24 Stunden in die Pyramidonlösung hinaus	Anthocyanaustritt während der zweiten 24 Stunden in das dest. Wasser hinaus	Gesamthaft ins Freie getretenes Anthocyan
	%	%	%
10^{-6}	4,4	2,8	7.2
10^{-7}	4,4	1,4	5,8
10^{-8}	0,4	0,8	1.2
10^{-9}	−2,5	−1,3	−3,8
10^{-10}	1,5	0,5	2,0
10^{-11}	4,1	2,0	6,1
10^{-12}	−0,4	1,2	0,8

Trotz dieser großen Schwankungen läßt die Tabelle 4 erkennen, daß das Pyramidon in den Verdünnungen von 10^{-8} bis 10^{-12} molar keinen meßbaren Einfluß auf den Austritt von Anthocyan aus den Geweben der roten Randen mehr ausübt. Der schwach negative Wert bei der Konzentration von 10^{-7} molar in Abb. 6 beruht somit auf einem Zufall: in Wirklichkeit erreicht die Kurve *P* im Bereich der Pyramidenkonzentrationen von 10^{-7} oder 10^{-8} molar ihren Nullpunkt.

Es bleibt also bei den Schlußfolgerungen, die im Anschluß an die vierte und die fünfte Versuchsreihe gemacht wurden:

1. Pyramidon ist für die Gewebe von roten Randen ein ausgesprochenes Plasmagift. Es wirkt also auf das Plasma nicht abdichtend, sondern permeabilitätssteigernd im Sinne einer Lockerung der Filter- bzw. Porenwege. Es schädigt die gerichtete Permeabilität (die Semipermeabilität) der Plasmagrenzschichten in einem Ausmaß, daß das Anthocyan aus dem Innern der Vakuolen durch das Plasma hindurch ins Freie tritt. Diese permeabilitätssteigernde Wirkung macht sich jedoch bei steigenden Pyramidonkonzentrationen in Gegenwart oder in Nachwirkung des Pyramidons in unterschiedlicher Weise geltend.

2. In Gegenwart von freiem Pyramidon durchläuft der Austritt von Anthocyan aus den Randengeweben mit steigender Konzentration der Pyramidonlösungen eine Optimumkurve, die bei der Konzentration von rund 10^{-7} molar anhebt, bei der Konzentration von 10^{-3} molar ein Maximum erreicht und dann zur Konzentration von 10^{-1} molar hin wieder absinkt; bei der Pyramidonkonzentration von 10^{-1} molar ist der pathologische Austritt von Anthocyan aus den Randengeweben wieder ungefähr gleich groß, wie er bei einer 1000mal stärkeren Verdünnung (10^{-4} molar) gewesen war. Und

3. in Nachwirkung des Pyramidons steigt der Austritt von Anthocyan aus den Randengeweben in das dest. Wasser hinaus mit wachsender Konzentration der für die Vorbehandlung verwendeten Pyramidonlösungen ungefähr geradlinig an.

§ 3. Besprechung der mit Randengeweben gewonnenen Ergebnisse

Die Deutung der mit Randengeweben gewonnenen Ergebnisse stößt auf die Schwierigkeit, daß wir nicht wissen, in welchem Ausmaß das Pyramidon bei den verschiedenen Konzentrationen in das Innere der Randenzellen gelangt. Wir wissen also nicht, ob die Konzentration der Pyramidonlösung, welche die Gewebescheibchen umspült, gleichgesetzt werden darf mit der „verabreichten Dosis" im Sinne der Humanmedizin, d. h. wir kennen den Pyramidonspiegel im Innern der Randengewebe nicht.

Da das Pyramidon lipophil ist, dürfen wir vielmehr vermuten, daß es sich an irgendwelchen Oberflächen oder in irgendwelchen Organen im Innern der Zellen selektiv anreichert und daß deshalb der gleichmäßigen (und meßbaren) Pyramidonkonzentration in der extrazellulären Versuchslösung überhaupt keine gleichmäßige Pyramidon-„Konzentration" im Innern der Randenzellen gegenübersteht.

Hinsichtlich der Wirkungsweise des Pyramidons im Innern der Zellen können wir uns spekulativ die folgenden Fälle vorstellen:

1. Das Pyramidon verändert für sich selbst vor sich her die Wegsamkeit, also die Durchlaßbereitschaft, die Intrabilität für den Eintritt aus der Versuchslösung in das Zellinnere, und zwar a) im Bereich der Plasmamembran (also der äußeren Plasmagrenzschicht), b) im

Innern des Plasmas, und c) im Bereich der Vakuolenwand (d. i. der inneren Plasmagrenzschicht, des Tonoplasten), und zwar vielleicht für jede dieser drei Filteretappen verschieden, entweder im Sinne einer Steigerung der Durchlaßbereitschaft (also permeabilitätserhöhend, im Sinne einer Lockerung des Filterweges), oder im Sinne einer Verminderung der Durchlaßbereitschaft (also abdichtend). Und

2. Das Pyramidon verändert diese Wegsamkeit nur (oder überdies auch) für den Austritt des Anthocyans aus der Vakuole durch die Vakuolenwand, durch das Plasma und durch die Plasmamembran hindurch in die Versuchslösungen hinaus, wobei auch hier wieder die Frage offenbleibt, ob diese Permeabilitätsänderungen für das nach außen strebende Anthocyan stets in gleichem Sinne und in gleichem Ausmaß erfolgen wie für das nach innen strebende Pyramidon. Die Molekulargewichte des Pyramidons und einiger willkürlich herausgegriffener Anthocyane (dasjenige des Randenanthocyans ist uns nicht bekannt) bewegen sich zwar in einer ähnlichen Größenordnung, nämlich (in runden Zahlen) Pyramidon 231, Delphinidinchlorid 339, Cyanidinchlorid 323, Paeonidinchlorid 337, Syringidinchlorid 367, Pelargonidinchlorid 631; doch sagen diese Molekulargewichte über die Permeierungsfähigkeit durch die drei verschiedenartigen Filterschichten nicht viel aus.

Wir kennen also das Ausmaß der Resorption des Pyramidons im Innern der Randengewebe nicht und kennen auch seine Verteilung auf die spezifischen Rezeptoren im Innern des Wirtsplasmas nicht, sondern wir messen nur das letzte Glied der Reaktion des Wirtes, nämlich die Menge des ins Freie tretenden Anthocyans. Auf dieser schmalen Basis hat die Imagination ein weites Feld.

Die Beobachtung, daß der Wirkungsgrad eines Stoffes bei wachsender Konzentration ein Optimum durchläuft und dann den Richtungssinn ändert, ist schon wiederholt gemacht worden, so in der Pharmakologie beim Übergang aus dem homöopathischen in den allopathischen Konzentrationsbereich und in der Biologie bei der Applikation von Wuchsstoffen. Heteroauxin fördert in hoher Verdünnung das Wachstum von Maiswurzeln, durchläuft bei der Konzentration von 10^{-11} molar ein Optimum und hemmt dann mit weiter zunehmender Konzentration das Wurzelwachstum in steigendem Maße (GEIGER-HUBER und BURLET, 1936). Eine ähnliche Optimumkurve besteht für die Wirkung des Auxins auf das Wachstum von Erbsenkeimlingen, wobei der Scheitelpunkt für die Wurzeln, die Knospen und die Stengel je bei einer andern Konzentration liegt (THIMANN, 1937).

Nicht nur die Wirkung der Wuchsstoffe auf das Wachstum der Keimlinge durchläuft jedoch eine Optimumkurve, sondern auch ihre Wirkung auf die Wasserpermeabilität der Keimlinge; so erhöht Heteroauxin in niederen und mittleren Konzentrationen (40 bis 80 Gamma je Liter) die Wasserpermeabilität von *Avena*-Koleoptilen; in hohen Konzentrationen setzt sie sie dagegen herab (POHL, 1948). Den Mechanismus stellt sich POHL

folgendermaßen vor: „Danach wirken Wuchsstoff und Säure in der pflanzlichen Zelle als Wasserstoff-Donator an einen im Plasmalemma gelegenen Quellkörper als Wasserstoff-Akzeptor. Dieser Quellkörper, wahrscheinlich ein Eiweiß, hat seinen isoelektrischen Punkt bei pH 6 bis 6,5. Durch Aufladung wird er einen höheren Quellungsgrad erreichen und damit unter Auflockerung des Plasmalemmas die Plasmaporen für den Eintritt von Wasser in die Vakuole erweitern. Die bei niedriger Wuchsstoffkonzentration gefundene Permeabilitätserhöhung kann damit erklärt werden. Bei hoher Wuchsstoffkonzentration führt nun eine weitere Quellung des Wasserstoffakzeptors wiederum zu einem Verschluß der Plasmaporen und damit zu einer Erniedrigung der Wasserpermeabilität, wie unsere Versuche zeigten."

Im Falle der Optimumkurve für den Austritt von Anthocyan aus den Geweben der roten Randen unter der Einwirkung des Pyramidons möchten wir uns den Sachverhalt anders zurechtlegen. Der pathologische Austritt des Anthocyans aus den Vakuolen wird nämlich im Falle unserer Versuchsanordnung funktionell durch zwei Filterschichten gesteuert, einerseits durch die innere Plasmagrenzschicht und anderseits durch das Plasma und die äußere Plasmagrenzschicht.

a) Das Verhalten der inneren Plasmagrenzschicht

Die innere Plasmagrenzschicht (die Vakuolenwand, der Tonoplast) dichtet die Vakuole mitsamt dem im Vakuolensaft gelösten Anthocyan gegen das Plasma hin ab; sie hält somit das Anthocyan gefangen und ist im Falle unseres Versuches der eigentliche Träger der Semipermeabilität. Sie entscheidet deshalb in erster Linie über die Befreiung des Anthocyans aus der Vakuole. Auf ihre Schädigung kommt es im Falle unseres Versuches in erster Linie an.

Bei der Wirkung des Pyramidons auf die innere Plasmagrenzschicht scheinen drei Gesichtspunkte wesentlich zu sein:

1. Die Schädigung der Semipermeabilität der inneren Plasmagrenzschicht erreicht rasch ihren maximalen Betrag. Kursorische Beobachtungen lassen vermuten, daß dies schon nach einer einstündigen Einwirkung des Pyramidons der Fall ist, also ähnlich wie bei der Übersteigerung der Saugkraft der Tomatensprosse in Abb. 2. Diese hohe Empfindlichkeit der inneren Plasmagrenzschicht für Pyramidon steht vielleicht mit dem hohen Lipoidgehalt dieser Grenzschicht in Beziehung oder mit dem Umstand, daß sie durch das Pyramidon gewissermaßen vom Rücken her gefaßt wird.

2. Die Schädigung der Semipermeabilität der inneren Plasmagrenzschicht ist zur Hauptsache irreversibel. Wir schließen dies aus der Tatsache, daß in Abb. 5 und 6, Kurve *W*, nach dem Auswaschen des überschüssigen Pyramidons mit steigender Konzentration der für die Vorbehandlung verwendeten Pyramidonlösung immer mehr Anthocyan ins Freie tritt. Das Auswaschen des überschüssigen bzw.

nicht fest eingebauten Pyramidons setzt somit die Anthocyanquote, die in Nachwirkung des Pyramidons ins Freie wandert, nicht herab; also ist die Schädigung der inneren Plasmagrenzschicht zur Hauptsache irreversibel.

3. Die irreversible Schädigung der Semipermeabilität der inneren Plasmagrenzschicht nimmt bei semilogarithmischer Darstellung geradlinig mit der Konzentration zu; dies geht unmittelbar aus der Betrachtung der Kurve *W* der Abb. 5 und 6 hervor.

b) Das Verhalten des Plasmas und der äußeren Plasmagrenzschicht

Das Plasma und die äußere Plasmagrenzschicht (die Plasmamembran) bilden im Falle unserer Versuchsanordnung funktionell gewissermaßen die äußeren Filterschichten. Sie entscheiden im Falle unserer Versuchsanordnung nur noch über die Symptome der Schädigung, welche die innere Plasmagrenzschicht erfahren hat, nämlich über das Ausmaß, in welchem das in Freiheit gesetzte Anthocyan in die Versuchslösungen hinaus gelangen und kolorimetrisch bestimmt werden kann. Es handelt sich also bei ihnen im Falle unseres Versuches vorwiegend um die Frage ihrer größeren oder geringeren Wegsamkeit für das pathologisch in Freiheit gesetzte Anthocyan.

Für die Wirkung des Pyramidons auf diese äußeren Filterschichten der Zelle scheinen die folgenden Gesichtspunkte wesentlich zu sein:

4. Die Einwirkung des Pyramidons auf die äußeren Filterschichten der Zelle wächst nicht stetig mit der Konzentration, sondern ändert bei der Konzentration von 10^{-3} molar ihren Richtungssinn. Bei den Konzentrationen von 10^{-7} bis 10^{-3} molar erhöht das Pyramidon in steigendem Maße die Wegsamkeit der äußeren Filterschichten für das in Freiheit gesetzte Anthocyan (progressiver Ast); es schädigt also in diesem Konzentrationsbereich die äußeren Filterschichten in gleichem Sinne wie zu gleicher Zeit die tiefer im Innern der Zelle gelegene innere Plasmagrenzschicht. Wird dagegen die Grenze von 10^{-3} molar überschritten, so vermindert das Pyramidon bis zu der Konzentration von 10^{-1} molar in steigendem Maße die Wegsamkeit der äußeren Filterschichten (regressiver Ast). Es wirkt also in diesem Konzentrationsbereich auf das Plasma und die äußere Plasmagrenzschicht entgegengesetzt wie (zu gleicher Zeit) auf die innere Plasmagrenzschicht: es dichtet sie in steigendem Maße ab und macht die Vergröberung oder Lockerung der Porenwege, die bei ihnen im Bereich der niederen Pyramidonkonzentrationen eingetreten war, zum Teil wieder rückgängig.

Diese Gegenläufigkeit im Bereich der hohen Pyramidonkonzentrationen: einerseits Steigerung der Permeabilität der inneren Plasmagrenzschicht und anderseits Abdichtung des Plasmas und der äußeren Plasmagrenzschicht, hat zur Folge, daß bei den hohen Pyramidonkonzentrationen potentiell mehr Anthocyan in Freiheit gesetzt wird als wegen der Abdichtung der äußeren

Filterschichten in die umspülende Pyramidonlösung hinaustreten kann; deshalb läuft in Abb. 5 die Kurve *W* höher aus als die Kurve *P*: erst nach dem Auswaschen des überschüssigen Pyramidons kann das (durch die Schädigung der inneren Plasmagrenzschicht in Freiheit gesetzte) Anthocyan auch wirklich ins Freie diffundieren. Träger des charakteristischen Verlaufes der Optimumkurve für den Austritt von Anthocyan bei steigender Pyramidonkonzentration sind somit nach unserer Auffassung das Plasma und die äußere Plasmagrenzschicht, nicht aber die innere Plasmagrenzschicht. Diese Deutung würde sich mit der früher besprochenen Auffassung von Pohl decken, wonach auch beim Heteroauxin die Optimumkurve für die Wasserpermeabilität der Zelle im wesentlichen vom Plasma getragen wird.

5. Der progressive Ast der Einwirkung des Pyramidons auf die äußeren Filterschichten wächst nicht geradlinig mit der Konzentration, sondern konvex von der x-Achse weg. Die schädigende Wirkung des Pyramidons auf die äußeren Filterschichten der Zelle nimmt also im Bereich der Konzentrationen von 10^{-7} bis 10^{-3} molar mit steigender Konzentration in übersteigertem Maße zu. Wir dürfen deshalb vermuten, daß mit zunehmender Pyramidonkonzentration stets neue Elemente des Plasmas und der äußeren Plasmagrenzschicht von der Schädigung erfaßt werden.

6. Die Einwirkung des Pyramidons auf das Plasma und die äußere Plasmagrenzschicht ist zum Teil irreversibel, zum Teil reversibel.

Irreversibel ist zur Hauptsache jener Anteil an der pathologischen Erhöhung der Wegsamkeit, die es dem Anthocyan auch nach dem Auswaschen des überschüssigen Pyramidons gestattet, nach dem Passieren der Vakuolenwand verhältnismäßig ungehindert durch das Plasma hindurch ins Freie zu diffundieren. Daß diese Diffusion verhältnismäßig ungehindert erfolgt, ergibt sich daraus, daß die Kurve *W* in den Abb. 5 und 6 geradlinig verläuft; würde nämlich von einer bestimmten Wegsamkeitskapazität an eine Hemmung der Diffusion eintreten, so müßte sich die Kurve *W* zur x-Achse hinbiegen.

Reversibel ist zur Hauptsache der Umschlag im Richtungssinne, also die abdichtende Wirkung des Pyramidons bei den Konzentrationen oberhalb 10^{-3} molar. Sie besteht nur in Gegenwart eines Überschusses von Pyramidon und dauert nur so lange, als dieser Pyramidonüberschuß besteht (Kurve *P* bei den Konzentrationen oberhalb 10^{-3} molar). Wird das überschüssige Pyramidon durch Auswaschen entfernt, so verschwindet der abdichtende Effekt, und es bleibt nur die irreversible Erhöhung der Wegsamkeit zurück (Kurve *W*).

Wir dürfen deshalb vermuten, daß bei der irreversiblen Permeabilitätserhöhung im progressiven Ast der Kurve *P* und bei der reversiblen Abdich-

tung im regressiven Ast unterschiedliche Mechanismen abrollen: anfänglich werden mit steigender Pyramidonkonzentration, wie soeben unter 5. ausgeführt, stets neue Elemente des Plasmas und der äußeren Plasmagrenzschicht in einer Weise geschädigt, welche die Wegsamkeit des Plasmas für das in Freiheit gesetzte Anthocyan endgültig erhöht; nach dem Überschreiten der kritischen Konzentration (10^{-3} molar) werden noch andere Elemente zur Reaktion, vielleicht zu einer vorübergehenden Ausflockung, gezwungen, welche der anfänglichen Auflockerung des Filters entgegenwirken und zu einer gewissen Abdichtung des Diffusionsweges führen.

Zusammenfassung

1. Die Wirkung steigender Pyramidonkonzentrationen auf den Wasserhaushalt von Tomatensprossen (*Solanum Lycopersicum* L.) und auf den pathologischen Austritt von Anthocyan aus den Geweben von roten Randen (*Beta vulgaris rubra*) wurde geprüft. Sie ist bei diesen zwei biologischen Systemen verschieden.

2. Entgegen den Erfahrungen der Humanmedizin besitzt Pyramidon keine abdichtende Wirkung auf die Zellmembranen der Tomatensprosse, sondern verursacht eine vorübergehende Steigerung der Saugkraft der Zellinhalte. Diese setzt bei der Pyramidonkonzentration von 10^{-5} molar ein und nimmt nicht mehr weiter zu, wenn die Konzentration auf das Tausendfache steigt (10^{-2} molar). Die vorübergehende Steigerung der Saugkraft wird also offenbar durch einmalige Umsetzungen im Zellinnern ausgelöst, die schon eine Stunde nach Applikation des Pyramidons ihren Höhepunkt erreichen.

3. Die Wirkungsschwelle des Pyramidons für Tomatensprosse liegt bei einer Gabe von 0,2 mg je kg Lebendgewicht, entsprechend einer globalen Konzentration von rund 10^{-6} molar im Innern der Gewebe, und die dosis toxica, bei welcher manifeste Schädigungen eintreten, liegt bei 200 mg Pyramidon je kg Lebendgewicht, entsprechend einer globalen Konzentration im Innern der Gewebe von 10^{-3} molar. Beim Menschen liegt die dosis therapeutica größenordnungsmäßig in einem ähnlichen Rahmen, nämlich bei 2 mg je kg Lebendgewicht, entsprechend einer Pyramidonkonzentration (je nach Berechnungsart) von 10^{-5} bis 10^{-3} molar in unserer Körperflüssigkeit.

4. Pyramidon ist für die Gewebe von roten Randen ein ausgesprochenes Plasmagift. Es wirkt also auf ihr Plasma nicht abdichtend, sondern permeabilitätssteigernd im Sinne einer Lockerung der Filter- bzw. Porenwege. Es schädigt die gerichtete Permeabilität (die Semipermeabilität) der Plasmagrenzschichten in einem Ausmaße, daß das Anthocyan aus dem Innern der Vakuolen durch das Plasma hindurch ins Freie tritt.

5. Diese permeabilitätssteigernde Wirkung macht sich jedoch bei steigenden Pyramidonkonzentrationen in Gegenwart oder in Nachwirkung des Pyramidons in unterschiedlicher Weise geltend: a) in Gegenwart von freiem Pyramidon durchläuft der Austritt von Anthocyan aus den Randengeweben mit steigender Konzentration der Pyramidonlösungen eine Optimumkurve, die bei der Konzentration von rund 10^{-7} molar anhebt, bei der Konzentration von 10^{-3} molar ein Maximum erreicht und dann bis zur Konzentration von 10^{-1} molar wieder absinkt; bei der Pyramidonkonzentration von 10^{-1} molar ist der pathologische Austritt von Anthocyan aus den Randengeweben wieder ungefähr gleich groß, wie er bei einer 1000mal stärkeren Verdünnung (10^{-4} molar) gewesen ist. Und b) in Nachwirkung des Pyramidons steigt der Austritt von Anthocyan aus den Randengeweben in das dest. Wasser hinaus mit wachsender Konzentration der für die Vorbehandlung verwendeten Pyramidonlösungen ungefähr geradlinig an.

6. Dieser widerspruchsvolle Kurvenverlauf wird in der folgenden Weise zu erklären versucht. Entscheidend für die Befreiung des Anthocyans aus den Randengeweben ist die Schädigung der inneren Plasmagrenzschicht, also jener Grenzschicht, welche die Vakuolen mitsamt dem im Vakuolensaft gelösten Anthocyan umschließt. Diese Schädigung wächst mit steigender Pyramidonkonzentration ungefähr linear (entsprechend der Kurve *W* in Abb. 5 und 6) und ist irreversibel. Doch gelangt nicht alles Anthocyan, das durch diese Schädigung der inneren Plasmagrenzschicht potentiell in Freiheit gesetzt wurde, auch wirklich ungehindert ins Freie; sondern die Diffusionsmöglichkeiten des Anthocyans werden durch jene Schädigungen modifiziert, welche das Pyramidon bei den äußeren Filterschichten, nämlich beim Plasma und bei der äußeren Plasmagrenzschicht (der Zellmembran) auslöst. Diese Schädigungen der äußeren Filterschichten sind zum Teil irreversibel, zum Teil reversibel. Im Bereich der Pyramidonkonzentrationen von 10^{-7} bis 10^{-3} molar bewegen sie sich in derselben Richtung wie die Schädigungen der inneren Plasmagrenzschicht, nämlich im Sinne einer pathologischen Erhöhung der Durchlaßfähigkeit. Bei der Konzentration von 10^{-3} molar schlägt in den äußeren Filterschichten der Wirkungssinn des Pyramidons in das Gegenteil um, und es erfolgt nunmehr, vielleicht durch vorübergehende Ausflockung, in zunehmendem Maße eine reversible Abdichtung der äußeren Filterschichten. Sie bewirkt, daß (solange Pyramidon im Überschuß vorhanden ist) nicht das gesamte in Freiheit gesetzte Anthocyan auch wirklich aus den Vakuolen durch das Plasma und die äußere Plasmagrenzschicht hindurch ins Freie diffundieren kann; deshalb nimmt, solange Pyramidon im Überschuß vorhanden ist, bei den Pyramidonkonzentrationen oberhalb 10^{-3} molar die Menge des in die Versuchslösungen hinaus gelangenden Anthocyans sukzessive ab (Kurve *P* der Abb. 5 und 6); doch vermag dieser späte abdichtende Effekt des Pyramidons die vorangehende pathologische Übersteigerung der Permeabilität nur noch zu mildern, aber nicht mehr aufzuheben.

Literaturverzeichnis

Collander, R., 1949: The permeability of plant protoplasts to small molecules. Physiologia plant. **2**, 300—311.

— —, 1950: The permeability of Nitella cells to rapidly penetrating non-electrolytes. l. c. **3**, 45—57.

— — und Wikström, B., 1949: Die Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Harnstoff und Alkylharnstoffe. l. c. **2**, 235—246.

Eichholtz, F., 1950: Die Anwendung von Novocain in der inneren Medizin. Klinische Wschr. **28**, 761—764.

Eppinger, H., 1949: Die Permeabilitätspathologie als die Lehre vom Krankheitsbeginn. Springer Wien, 755 S.

Gäumann, E. und Jaag, O., 1947: Die physiologischen Grundlagen des parasitogenen Welkens I—III. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **57**, 3—34, 132—148, 227—241.

— —, — —, 1950: Über das toxigene und das physikalisch induzierte Welken. Phytopath. Z. **16**, 226—256.

— —, Naef-Roth, St., Reusser, P. und Ammann, A., 1952: Über den Einfluß einiger Welketoxine und Antibiotica auf die osmotischen Eigenschaften pflanzlicher Zellen. l. c. **19**, 160—220.

Geiger-Huber, M. und Burlet, E., 1936: Über den hormonalen Einfluß der Beta-Indolylessigsäure auf das Wachstum isolierter Wurzeln in keimfreier Organkultur. Jb. wiss. Bot. **84**, 233—253.

Gross, F., 1950: Unspezifische Beeinflussung entzündlicher Reaktionen. Schweiz. med. Wschr. **80**, 697—701.

Hodgson, R., Peterson, W. H., and Riker, A. J., 1949: The toxicity of polysaccharides and other large molecules to tomato cuttings. Phytopath. **39**, 47—62.

Muschaweck, R., 1950: Über die Wirkung von Rutin, Methylolrutinen und Rutinestern auf die Permeabilität der Hautkapillaren bei der Ratte. Arch. exper. Pathol. u. Pharmakol. **209**, 279—285.

Pohl, R., 1948: Ein Beitrag zur Analyse des Streckungswachstums der Pflanzen. Planta **36**, 230—261.

Thimann, K. V., 1937: On the nature of inhibitions caused by auxin. Amer. Journ. Bot. **24**, 407—412.

Uri, W., 1952: Permeabilitätsstudien mit Fettsäureamiden. Protoplasma **41**, 287—301.

Wilhelmi, G., 1949: Über die pharmakologischen Eigenschaften von Irgapyrin, einem neuen Präparat aus der Pyrazolreihe. Schweiz. med. Wschr. **79**, 577—582.

Aus dem Biologischen Laboratorium der Dr. Maag A. G., Dielsdorf/Schweiz und der Station Expérimentale de la Dargoire, Péchiney-Progil, Lyon/France

Neue Mittel zur Bekämpfung der Korn- und Boden-„Infektion" des Weizensteinbrandes

Von

L. Zobrist und J. Thiollière

Mit 4 Abbildungen

1. Einleitung

Zwei Wege stehen dem Weizensteinbrand (*Tilletia tritici* [Bjerk.] Wint.) offen, um zum Weizenkeimling hinzugelangen:

1. Beim Dreschen werden die Brandbutten zerschlagen, die Sporen haften am Bärtchen der Weizenkörner und gelangen mit diesen in den Erdboden.
2. Durch Stalldünger, Jauche oder Dreschabfälle werden die Brandsporen auf das Feld gebracht, und nach der Aussaat kommen dann die Weizenkörner mit den Sporen in Berührung.

Die Brandsporen keimen zur gleichen Zeit wie das Korn, und ihre Hyphen dringen interzellular durch das Koleoptil in die junge Keimpflanze ein. Um die Weizenpflanze gegen die Infektion durch Steinbrand zu schützen, muß der Erreger der Brandkrankheit vor dem Eindringen in den Keimling durch chemische Desinfektion des Saatgutes, durch sogenannte Beizung, unschädlich gemacht werden.

Bei der adhärenten Sporenübertragung, bei welcher die Brandsporen sich im Bärtchen des Kornes befinden, haben seit Jahren die organischen Quecksilber-Verbindungen in Form von Naß-, Trocken- oder Sprühbeizmitteln die besten Resultate ergeben. In den letzten Jahren begannen sich die Meldungen zu mehren, daß selbst bei nachweislich zuverlässiger Beizarbeit die gut wirkenden Quecksilber-Präparate gegen den gewöhnlichen Weizensteinbrand nicht mehr genügten. Die Untersuchung solcher Versager zeigte eindeutig, daß das Nachlassen in der Wirkung auf einer Verseuchung des Bodens mit Brandsporen beruht. In diesen Fällen waren die nach dem Beizprozeß dem Saatgut anhaftenden chemischen Desinfektionsmittel nicht mehr wirksam genug, um die Infektion durch den Krankheitserreger vom Boden her zu verhindern.

Es stellte sich nun sofort die Frage: Wie läßt sich diese seit einer Reihe von Jahren vermehrt auftretende Verseuchung des Bodens mit Brandsporen erklären und was läßt sich dagegen vorkehren? Durch die neueren Erntemethoden, wie Trocknung des Getreides in Puppen auf dem Feld, durch Verwendung des Bindemähers und vor allem aber durch die vermehrte Verwendung des Mähdreschers, wird ein Teil der Brandbutten aus den Brandähren gelöst, bleibt auf dem Feld liegen und verseucht den Acker auf Jahre hinaus. Die Steinbrandsporen besitzen nachweislich eine Lebensdauer von 5 bis 15 Jahren (Lansade, Ponchet et Guntz, 1951). Diese neue, veränderte Möglichkeit der Kontamination (nicht Infektion) verlangt nach Beizmitteln, die einerseits bei Übertragung der Brandsporen durch das Saatgut, anderseits aber speziell bei Verseuchung des Bodens mit *Tilletia*-Sporen zuverlässig wirken.

Im Verlaufe von Versuchen zur Prüfung von Saatbeizmitteln, die in Dielsdorf seit 1937 durchgeführt wurden, konnten wir feststellen, daß das von der Firma Progil, Lyon, schon seit 1945 zur Saatbeize verwendete Hexachlorbenzol (C_6Cl_6: nachstehend abgekürzt HCB genannt) eine spezifische Wirkung gegen die durch Bodenkontamination hervorgerufene Brandkrankheit des Weizens besitzt. In Zusammenarbeit mit Progil unternahmen wir ausgedehnte Versuche zur genauen Abklärung der Wirkungsweise von HCB gegen den Weizensteinbrand.

2. Anlage der Versuche

a) Laboratoriumsmäßige Prüfung

Unter den verschiedenen in der Literatur beschriebenen Methoden zur laboratoriumsmäßigen Prüfung von Beizmitteln wählten wir diejenige nach Gassner (1943). Dieses Prüfungsverfahren erlaubt, rasch und mit genügender Sicherheit den Wert eines Beizmittels bei adhärenter Übertragung der Brandsporen zu bestimmen (Zobrist, 1945).

Für die Beurteilung der Kontamination durch den Boden setzten wir je Kilogramm Schlämmerde 6 g Brandsporen zu und verwendeten im weiteren die Methode genau nach den Angaben Gassners. Damit ließ sich auch laboratoriumsmäßig die unterschiedliche Wirkung verschiedener Beizmittel bei Bodenverseuchung durch Weizensteinbrand feststellen.

b) Freiland-Versuche

Für die Feldversuche verwendeten wir die als Steinbrand-anfällig bekannte Winterweizensorte „Mont Calme 245“ und einen uns in früheren Versuchen als sehr aggressiv bekannten Stamm von *Tilletia tritici* (Bjerk.) Wint.

Das feldbesichtigte, ungebeizte Saatgut Mont Calme 245 „infizierten“ wir mit 6 g Brandsporen je Kilogramm (in Wirklichkeit ist es eine Kontamination, da das Saatgut den künftigen Krankheitserreger nur auf sich trägt,

Gäumann, 1951). Für die in Frankreich durch die Station Expérimentale de la Dargoire unternommenen Versuche verwendete man die Weizensorte „Vilmorin 27". Die Kontamination des Saatgutes wurde mit 5 g Brandsporen je Kilogramm, diejenige des Bodens mit 0,1 bis 1 g je qm ausgeführt.

Die Desinfektion des Saatweizens erfolgte mit 200 g Trocken- bzw. 200 ccm Sprühbeizmittel je 100 kg Weizen. Die 1 qm großen Parzellen enthielten fünf Saatrillen von je 1 m Länge und wurden in fünffacher Wiederholung angelegt. Um die Randwirkung und allfällige Beschädigungen auszuschließen, wurde längsseits der Parzellen, d. h. entlang dem Gehweg, eine Rille ungebeiztes Saatgut gesät. Die Saatdichte betrug 10 g je qm resp. 100 kg/ha.

Bei den Versuchen zur Abklärung der Bodenverseuchung wurden in die offenen Saatrillen 1 g Brandsporen, vermischt mit feinem Quarzsand, gleichmäßig je Parzelle, d. h. auf die fünf 1-m-langen Rillen, verteilt; darauf erfolgte die Aussaat und das übliche Eindecken der Weizenkörner.

Die Versuche in Dielsdorf legten wir in zwei Aussaatzeiten, um den 20. Oktober (Oktoberaussaat) und um den 20. November (Novemberaussaat) an. Nebeneinander untersuchten wir nachstehende drei Möglichkeiten der Verseuchung:

a) Korn kontaminiert = Korn-„Infektion",
b) Boden kontaminiert = Boden-„Infektion",
c) Korn und Boden kontaminiert = Korn- und Boden-„Infektion".

(Da die Begriffe Korn- bzw. Boden-„Infektion" in der Literatur [Rademacher, 1951] eingeführt sind, verwenden auch wir sie.)

Abb. 1. Gesamtübersicht (450 Parzellen): Abernten der Beizversuche 1952 in Dielsdorf

Die Kontrolle erfolgte derart, daß bei der Ernte alle Ähren je qm-Parzelle ausgezählt und zwischen gesund und *Tilletia*-befallen unterschieden wurden. Als krank beurteilten wir auch Ähren mit nur teilweisem Befall.

Präparate, die im Vorjahr gute Wirkung zeigten, prüften wir außerdem in 2 Ar großen Parzellen mit Maschinensaat.

In unseren Versuchen in Dielsdorf (Abb. 1) kontrollierten wir 1952 insgesamt 172 478 Ähren, in Frankreich wurden durch die Stations Expérimentales Péchiney-Progil de la Dargoire et de Villefranche mehr als 80 000 Ähren auf Brandbefall untersucht, so daß insgesamt über eine Viertelmillion auf Steinbrand geprüfte Ähren die Unterlage für die zu besprechenden Versuche bilden.

3. Vergleich der Wirkung verschiedener Beizmittel

Seit 1937 wurden in den Versuchsanlagen der Chemischen Fabrik Dr. R. Maag A. G., Dielsdorf, vergleichende Prüfungen mit Beizmitteln in größerem Umfang durchgeführt; bis 1950 wurden alljährlich über 50 000 Ähren kontrolliert. Um rascher orientierende Ergebnisse erhalten zu können, bedienten wir uns auch seit 1945 der oben beschriebenen laboratoriumsmäßigen Prüfmethode nach Gassner.

Unsere Untersuchungen verfolgten einerseits den Zweck, die giftigen Quecksilber-Beizmittel durch giftfreie Präparate zu ersetzen — dieses Ziel wurde 1945 im Saatbeizmittel Maag erreicht —, anderseits waren wir bestrebt, den Wirkungsbereich unserer Beizmittel zu erweitern.

In Frankreich untersuchten die Versuchsstationen Péchiney-Progil seit 1945, sei es im Laboratorium nach der Methode Gassner, sei es in Freilandversuchen, eine große Zahl von Wirkstoffen gegen den Weizensteinbrand. Diese Versuche bestätigten die ausgezeichnete Wirkung von Hexachlorbenzol gegen *Tilletia tritici*, die Yersin, Chomette, Baumann und Lhoste auf Grund ihrer Versuche in den Jahren 1942—44 zum erstenmal festgestellt haben.

A. Laboratoriumsversuche

a) Korn-„Infektion"

Unsere laboratoriumsmäßigen Untersuchungen über die erforderliche Wirkstoffmenge (Tabelle 1) zeigten die spezifische Empfindlichkeit von *Tilletia tritici* gegenüber Hexachlorbenzol. Die Grenze der Wirksamkeit liegt bei 5 % Aktivsubstanz im Präparat; unterhalb dieser Menge tritt im Schalenversuch Keimung des Pilzes ein. Dieses Resultat deckt sich vollständig mit den Ergebnissen von Lansade, Ponchet et Guntz (1951).

Vergleicht man beispielsweise die bis dahin in der Schweiz gebräuchlichen vier Quecksilbermittel mit einem 10 % Hexachlorbenzol enthaltenden Versuchspräparat, so ist festzustellen, daß bei einer Beizmittelmenge von 100 g

je 100 kg Saatgut, also der Hälfte der üblichen Aufwandmenge, das Auskeimen der Brandsporen nur vom HCB-Präparat verhindert wird. Sät man das gleiche, mit *Tilletia*-Sporen kontaminierte und danach gebeizte Saatgut im Feldversuch aus, so erhält man bei Quecksilber-Beizmitteln 7 bis 70mal mehr Brandähren als bei Beizung mit HCB.

Tabelle 1

Wirkung von Hexachlorbenzol bei Korn-„Infektion" auf die Keimverhinderung der Brandsporen bzw. Brandbefall, verglichen mit Quecksilber-Beizmitteln

Mittel	Taxierung der Keimung nach Methode Gassner		% Steinbrand-Ähren
	100 g/100 kg	200 g/100 kg	200 g/100 kg
Hexachlorbenzol 1 % + Talk	3,3	2,8	—
„ 2 % + „	2,6	1,2	—
„ 2,5 % + „	—	—	1,9*
„ 3 % + „	1,9	0,4	—
„ 4 % + „	0,4	0,3	0*
„ 5 % + „	0	0	—
„ 7 % + „	—	—	0,9*
„ 10 % + „	0	0	0,4*
„ 15 % + „	0	0	0*
„ 20 % + „	0	0	0*
Ungebeizt	4	4	86,9*
Gebräuchliche Beizmittel Nr. 1	2,9	1,7	10,4
auf Basis organischer Nr. 2	0,1	0	2,8
Hg-Verbindungen Nr. 3	3,0	2,3	27,8
Nr. 4	2,2	0	3,1
Ungebeizt	4	4	73,4

Saatgut kontaminiert mit 6 g Brandsporen je Kilogramm.
* = Versuch Dargoire.

b) Boden-„Infektion"

Schon aus den Schalenversuchen gehen eindeutig die Unterschiede in der Wirkung der verschiedenen Beizmittel bei Boden-„Infektion" hervor (Tabelle 2). Selbst bei der halben Beizmittelmenge, d. h. 100 g je 100 kg Saatgut, verhindert HCB die Keimung der im Boden dem Korn anliegenden Brandsporen. Weiterhin zeigt sich vom gebeizten Korn aus eine Gaswirkung auf die an der Oberfläche befindlichen Sporen, wodurch diese in einem bestimmten Umkreis nicht mehr auskeimen (Abb. 2). Auch die bei Korn-„Infektion" bestwirkenden Quecksilber-Beizmittel vermochten in der Normalanwendung (200 g je 100 kg) das Auskeimen der im Boden befindlichen Sporen in der Korn-Kavität nicht zu verhindern (vgl. Tabelle 2).

Die Schalenversuche ergaben ein wertvolles, orientierendes Bild über die Wirkung der verschiedenen Beizmittel bei Korn- bzw. Boden-„Infektion", und die Resultate decken sich mit den im Freiland-Versuch erhaltenen.

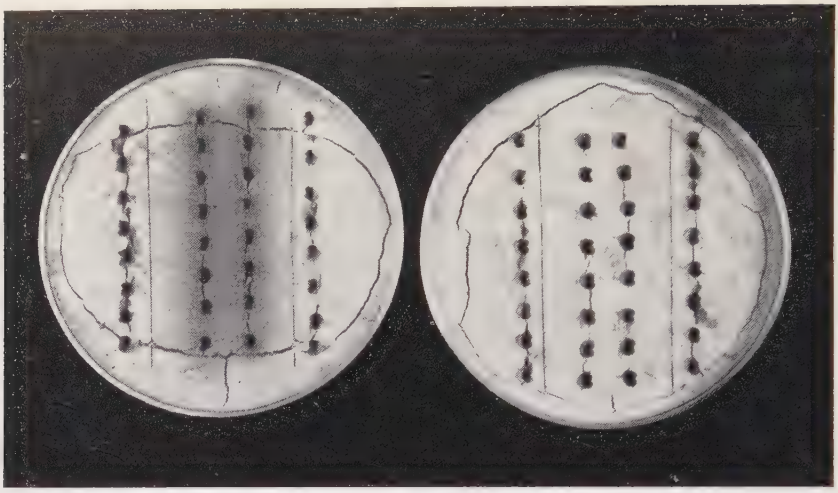


Abb. 2. Schalen-Versuch nach GASSNER: Durch die Boden-„Infektion" ist die Erdoberfläche von den gekeimten Sporen weiß (äußere beide Reihen ungebeizt, innere zwei gebeizt, Körner ausgezupft).

Links: Von den mit Hexachlorbenzol gebeizten Körnern strahlt eine Gaswirkung aus, die auch oberflächlich die Sporenkeimung verhindert.

Rechts: Mit Quecksilber-Beizmittel behandelte Körner beeinflussen die Brandsporen auf der Oberfläche nicht

Tabelle 2

Wirkung von Hexachlorbenzol bei Boden-„Infektion" auf die Keimverhinderung der Brandsporen, verglichen mit Quecksilber-Präparaten

Mittel		Taxierung der Keimung nach Methode GASSNER	
		100 g/100 kg	200 g/100 kg
Hexachlorbenzol + X + Y		0	0
Gebräuchliche Beizmittel auf Basis organischer Quecksilber-Verbindungen	Nr. 1	2,2	1,1
	Nr. 2	3,9	3,5
	Nr. 3	3,0	1,6
	Nr. 4	1,4	0,9
Ungebeizt		4	4

c) Gaswirkung von Hexachlorbenzol-Präparaten

Die weitere Untersuchung dieser Gaswirkung schien uns einerseits im Hinblick auf die Bekämpfung der Boden-„Infektion" des gewöhnlichen Weizensteinbrandes, anderseits aber ganz besonders für unsere Arbeiten zur Bekämpfung des Zwergbrandes (*Tilletia brevifaciens* G. W. Fisch.) von größter Bedeutung.

Untersuchungen über die Gaswirkung quecksilberhaltiger Beizmittel, insbesondere der sehr giftigen Alkyl-Hg-Verbindungen, beschreibt GASSNER (1951). RADEMACHER (1951) berichtet über ein Beizmittel auf Basis von Pentachlornitrobenzol, das im Boden eine gewisse Fernwirkung ausübt.

Bei den ersten Untersuchungen mit HCB-enthaltenden Beizmitteln machten wir schon die Feststellung, daß bei einem Gehalt von 3 % Aktivsubstanz nur ein Teil der Sporen nicht auskeimt, ein anderer Teil mehr oder weniger normale Keimung aufweist, der Großteil aber an Stelle der rudimentären Basidien zu dünnen, fädigen, hyphenähnlichen Gebilden auswächst (Abb. 3). Normalerweise ist die aus der Spore auswachsende rudimentäre Basidie halb so dick wie die Spore selbst und trägt die charakteristischen Basidiosporen.

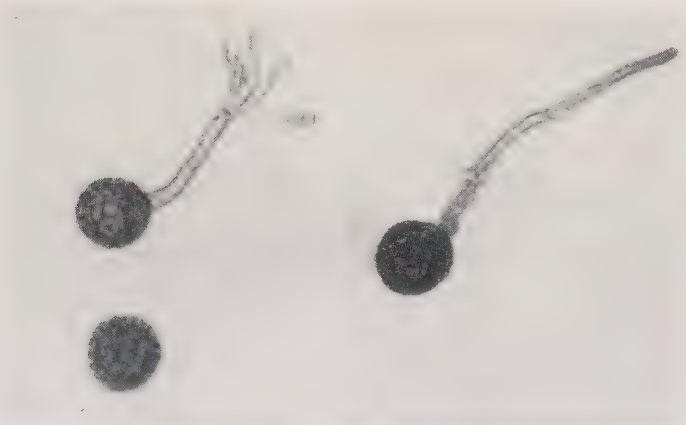


Abb. 3. Keimung von *Tilletia tritici*-Sporen:
Links: Normal auswachsende Sporen, Basidie mit Basidiosporen.
Rechts: Durch Hexachlorbenzol verursachte Mißbildung und Deformation in der Keimung der Sporen

Wie aus Abb. 4 ersichtlich ist, greift die keimhemmende Wirkung des HCB-Präparates auch auf die Fläche hinter dem durch Eindrücken eines Objektträgers geschaffenen Spalt über, so daß sich beiderseits des Spaltes und beiderseitig der strichförmig aufgetragenen Beizsubstanz eine tote Zone entwickelt. Da eine Diffusion über den Spalt hinweg nicht möglich ist, muß eine gasförmige Ausdünstung von HCB die Keimverhinderung bewirken.

Aus den Abb. 3 und 4 geht weiter hervor, daß keine scharfe Grenze zwischen der toten Zone und der vollen Sporenkeimung besteht; der Übergang vollzieht sich mehr allmählich. Diesen Vorgang bezeichnet GASSNER (1951) als Gaswirkung; es ist damit selbstverständlich nicht gesagt, daß neben dieser Gaswirkung nicht auch noch eine Wirkung, resultierend aus der Diffusion, besteht. Diese wird aber von der Gaswirkung überstrahlt.

Als Ergebnis der Laboratoriumsversuche kann festgestellt werden, daß ein Beizmittel mit 10 % Hexachlorbenzol auf die Steinbrandsporen eine stärkere Toxizität ausübt als die gebräuchlichen Quecksilber-Beizmittel in der

normalen Anwendungskonzentration. Hexachlorbenzol besitzt zudem eine Gaswirkung, die es befähigt, auch bei Boden-„Infektion" toxischer zu wirken als Beizmittel auf Quecksilber-Basis.

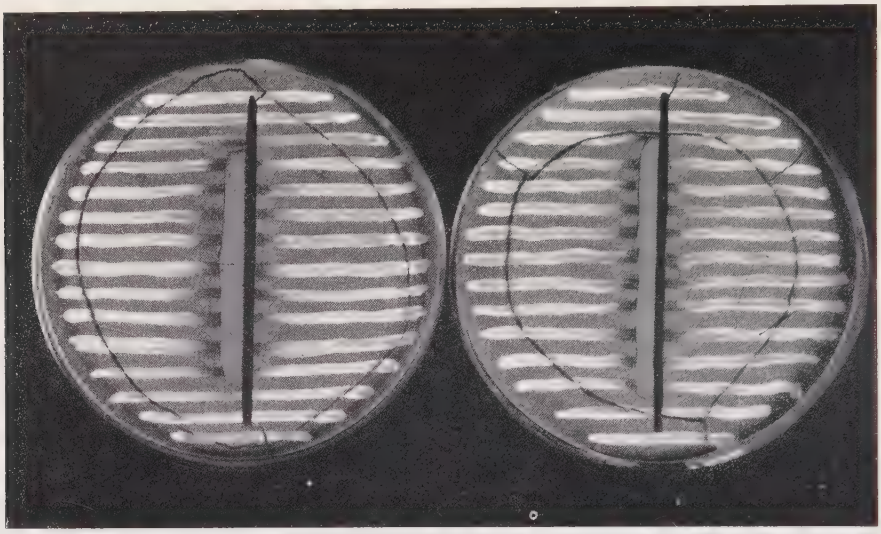


Abb. 4. Prüfung der Gaswirkung eines HCB-Beizmittels nach der Methode GASSNER.
Querbänder: Aufgetragene Sporensuspension.
Längsband: Aufgetragenes Beizmittel.
Die Wirkung greift über den neben dem Beizmittel angebrachten Spalt, der eine Diffusion verhindert, hinaus, derart, daß die Wirksubstanz allseitig von einem Hof ungekeimter Sporen umgeben ist
(Photos: M. Dickenmann, Photoarchiv Dr. R. Maag A.G., Dielsdorf)

B. Ergebnisse der Freilandversuche bei Korn- oder Boden- oder Korn + Boden-„Infektion"

Da beim Weizensteinbrand auch unter optimalen Umständen eine Spore keine Infektion auszulösen vermag, sondern erst die Masseninfektion (GÄUMANN, 1951), war vorerst festzustellen, welche Stärke der Kornkontamination nötig ist, um einen möglichst hohen Befall zu erreichen. Wie aus Tabelle 3 hervorgeht, steigt der Brandbefall mit der Erhöhung der Sporenmenge, mit der das Saatgut „infiziert" bzw. kontaminiert wird; im umgekehrten Sinn sinkt aber die Wirksamkeit der Beizmittel.

Unsere Versuche zeigten, daß 6 g Sporen je Kilogramm Saatgut an den Weizenkörnern noch restlos haften bleiben und damit eine Kontamination ergeben, wie wir sie auch in den schlimmsten uns bekannten natürlichen Verseuchungsfällen nie beobachten konnten. Eine weitere Steigerung auf 8 g je Kilogramm Körner ergibt wohl noch eine zusätzliche Erhöhung des späteren Brandbefalles, die Sporenmasse wird aber nicht mehr gleichmäßig aufgenommen. Wir betrachten deshalb für die künstliche Kornkontamination der Feldversuche die Menge von 6 g je Kilogramm Saatgut als zweckmäßig.

Tabelle 3

Einfluß der Stärke der Korn-„Infektion" auf den Brandbefall und die Wirkung verschiedener Beizmittel

Mittel	*Tilletia*-Befall bei Korn-Kontamination mit x g Brandsporen je kg Saatgut					
	1	3	5		6	8
	Da*	Da*	Da*	V	Di**	Di**
Ungebeizt	32	44	54	59	67,1	79,9
HCB-Beizmittel, 200 g/100 kg			0,1	0	0,1	0,2
Hg-Sprühbeizmittel Nr. 2, 200 g/100 kg			2	0	1	0,4
Hg-Trockenbeizmittel Nr. 5, 200 g/100 kg			4	1,9	—	—
„ „ Nr. 1, 200 g/100 kg					7.0	14,8
Cu-Trockenbeizmittel Nr. 7, 200 g/100 kg					15,0	25,6

Da = Versuch Dargoire
Di = „ Dielsdorf
V = „ Villefranche

Saatgut: * = Vilmorin 27
** = Mont Calme 245 (1951)
Saatzeit: 30. 11. resp. 6.—14. 11.

In der Gruppe der Korn-„Infektion" (Tabelle 4) war das Infektionsergebnis bei ungebeizt mit 73 % bei Oktoberaussaat und 76 % bei Novemberaussaat günstig. Um so bemerkenswerter ist es, daß die HCB-Beizmittel bei Aussaat im Oktober den Steinbrandbefall auf 0,1 bis 0,5 %, bei Aussaat im November auf 0,2 bis 2,2 % reduzierten. Überraschend war für uns zudem das hohe Infektionsergebnis bei den quecksilberhaltigen und quecksilberfreien Beizmitteln des Handels. Die als Standardpräparate betrachteten Quecksilber-Beizmittel vermochten die Masseninfektion mit diesem aggressiven *Tilletia*-Stamm zu beiden Aussaatzeiten nicht mehr wirksam zu unterbinden (Mittel 11,0 % bzw. 30,5 % Befall).

In der Gruppe Boden-„Infektion" (Tabelle 4) reduzierten die HCB-Präparate (beide Aussaatzeiten) das Infektionsergebnis von 70 %, resp. 51 % bei ungebeizt auf 4,7 bis 9,0 % (im Mittel 6,8 %) resp. 1 bis 3,9 % (im Mittel 2,0 %) Brandbefall. In auffallendem Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse der Quecksilber-Präparate. Bei der Oktobersaat liegt der Mittelwert mit 74 % brandigen Ähren sogar etwas höher als das Infektionsergebnis bei ungebeizt. Bei Novembersaat sind die Befallsprozente bei ungebeizt, resp. quecksilbergebeizt genau gleich. Für die Bekämpfung der Boden-Kontamination müssen somit die in der Schweiz üblichen Quecksilber-Beizmittel als ungeeignet betrachtet werden.

In der Gruppe Korn- und Boden-„Infektion" (Tabelle 4), eine Möglichkeit, die im kleinbäuerlichen Betrieb mit Verwendung von Saatgut aus eigener Produktion ohne weiteres auftreten kann, bewegt sich das Infektionsergebnis mit 69 % bei ungebeizt im Rahmen der anderen Gruppen. Obschon auf beiden Wegen der Kontamination Brandsporen zum keimenden Weizenkorn hingelangten, ist keine Erhöhung des Befalles aufgetreten; daraus ist zu schließen, daß wir mit unseren Kontaminationsmengen das Optimum erreicht haben. Das Beizmittel muß also gegen zwei Angriffe, d. h. vom Korn und

vom Boden her, wirken. Deshalb ist auch das Infektionsergebnis der gut wirksamen Hexachlorbenzol-Präparate höher und erreicht im Mittel für die Oktoberaussaat 12,1 %, resp. 3,1 % für die Novemberaussaat, gegenüber 68,6 %, resp. 69,9 % Brandähren bei ungebeizt.

Tabelle 4

Wirkung von Hexachlorbenzol (HCB)-Beizmitteln, verglichen mit Handelspräparaten
(Beizversuche 1951/52)

Mittel		% *Tilletia*-Befall bei Korn-„Infektion“		Boden-„Infektion“		Korn- + Boden-„Infektion“	
		Okt.	Nov.	Okt.	Nov.	Okt.	Nov.
Ungebeizt		73,4	76,3	69,7	51,3	68,6	69,9
HCB-haltige Präparate							
HCB 10 %		0,5	2,2	4,7	3,9	12,8	4,6
HCB 10 % + X		0,1	0,6	9,0	1,8	10,8	3,6
HCB 10 % + X + Y		0,3	0,2	6,1	1,0	12,5	1,9
HCB + X + Y (Prosat M)		0,2	0,4	7,6	1,3	12,3	2,2
HCB + X + Y + Lindan (Belsat)		0	0	—	—	—	—
Mittelwert		**0,3**	**0,8**	**6,8**	**2,0**	**12,1**	**3,1**
Hg-haltige Präparate							
A. Trockenbeizmittel							
Auf Basis organischer Hg-Verbindungen	Nr. 1	10,4	50,0	73,2	58,4	82,1	60,7
	Nr. 3	27,8	51,8	69,8	49,1	77,1	62,1
	Nr. 4	3,1	5,0	80,7	41,3	82,8	31,4
B. Sprühbeizmittel							
Auf Basis organischer Hg-Verbindungen	Nr. 2	2,8	15,4	74,0	57,6	64,6	35,0
Mittelwert		**11,0**	**30,5**	**74,4**	**51,1**	**76,6**	**47,5**
Hg-freie Präparate							
Auf Basis TMTD	Nr. 6	39,2	—	73,3	—	69,6	—
Auf Basis Cu	Nr. 7	31,9	29,2	60,4	34,9	—	—

Saatgut: Mont Calme 245, Korn-„Infektion“ mit 6 g/kg, Boden-„Infektion“ mit 1 g/m². Gesamtzahl der kontrollierten Ähren: 81 918.
X = Cu-Verbindung, Y = Dithiocarbamat.

Wenn schon die quecksilberhaltigen und quecksilberfreien Beizmittel des Handels bei der Korn-„Infektion“ nicht voll befriedigten und bei der Boden-„Infektion“ ohne Wirkung blieben, so war zu erwarten, daß sie dieser doppelten Verseuchung erst recht nicht genügten.

Die Ergebnisse unserer Freiland-Versuche sowie die Resultate aus Frankreich (Tabelle 5) bestätigten die in den Laboratoriumsversuchen vorgezeigte spezifische Wirkungsweise des HCB als Beizmittel gegen *Tilletia tritici*.

Tabelle 5
Vergleich der Wirkung von HCB- und Hg-Beizmitteln bei Korn- und Boden-„Infektion"
(Versuch Frankreich)

Mittel	% *Tilletia*-Befall bei				
	Korn-„Infektion"		Boden-„Infektion"		Korn- + Boden-„Infektion"
	V	D	V	D	V
HBC 10 %, Trockenbeizmittel [1] ..	0	0,1	0,6	3,8	—
Organisches Hg-Beizmittel (1,5 % Hg)	1,0	4,0	64,8	66,0	—
Ungebeizt	59,0	54,0	84,7	74,0	80,6

V = Station de Villefranche. D = Station de la Dargoire.
[1]) (Chloroblé Péchiney-Progil).

C. Besprechung der Ergebnisse

Die Laboratoriums- und Freiland-Versuche zeigen, daß ein 10 % Hexachlorbenzol enthaltendes Beizmittel eine vielfach stärkere toxische Wirkung auf die Steinbrandsporen ausübt als die bis heute gebräuchlichen Quecksilber-Beizmittel. Dies gilt schon für die Korn-„Infektion". Bei einem Steinbrandangriff auf das keimende Weizenkorn vom Boden her vermag die der Samenschale anhaftende Menge Quecksilber-Beizmittel dieses nicht mehr genügend zu schützen. Bei den Beizmitteln auf Hexachlorbenzol-Basis geht eine Gaswirkung von der Beizmittelschicht aus, die eine Desinfizierung der um das Korn herum liegenden Erdschicht bewirkt. In diesem Schutz kann das Koleoptil sich entwickeln und die Erdschicht durchbrechen, ohne vom Steinbrandpilz erfaßt zu werden.

Wirken beide Infektionsmöglichkeiten vom Korn und vom Boden her zusammen, so ist die Schwierigkeit einer Infektionsverhinderung noch größer. Bei den Quecksilber-Beizmitteln ist der Befall erwartungsgemäß gleich stark wie bei ungebeizt; mit Hexachlorbenzol-Beizmitteln wurde eine Reduktion auf 12 % bzw. 3 % erreicht. Wenn auch bei Boden- und Korn- + Boden-„Infektion" noch ein Befall bei Hexachlorbenzol auftrat, so ist zu bedenken, daß wir einerseits mit einem äußerst aggressiven *Tilletia tritici*-Stamm arbeiteten, anderseits an Körnern und Boden eine künstliche Kontamination vornahmen, wie sie unter natürlichen Verhältnissen wohl kaum zu erwarten ist.

Die Feststellung der sicheren Wirkung des Hexachlorbenzols gegen die Boden-„Infektion" des Weizensteinbrandes erscheint uns auch in bezug auf die Bekämpfungsaussichten gegen den Zwergbrand oder Kurzsteinbrand (*Tilletia brevifaciens*, Fischer, 1952) von besonderer Wichtigkeit. Diese Abart des Steinbrandes befällt die Saatkörner im Boden und ist bis heute durch die Kornbeizung mit gewöhnlichen Quecksilber-Präparaten nicht zu bekämpfen. Nach unseren neuesten Feststellungen genügen auch Hexachlorbenzol-Präparate in der normalen Konzentration nicht. Frühere Erfahrungen auf diesem Gebiet mit HCB-Präparaten liegen unseres Wissens nicht vor.

Zusammenfassung

Die Arbeit weist darauf hin, daß der Befall durch den Weizensteinbrand, *Tilletia tritici*, in den letzten Jahren als Folge vermehrter Boden-„Infektion" resp. Kontamination zugenommen hat. Das Vorgehen für die laboratoriums- und feldmäßige Prüfung von Beizmitteln bei Korn- oder Boden- oder Korn + Boden-„Infektion" wird beschrieben. Aus den Untersuchungen geht hervor, daß Beizmittel auf Basis von Hexachlorbenzol (HCB) den gebräuchlichen Quecksilber-Beizmitteln vielfach überlegen sind. Dies beruht auf einer dem HCB eigenen Gaswirkung. Die Hexachlorbenzol-Beizmittel ergaben auch eine gute Wirkung gegen die Boden-„Infektion" und gegen die Doppel-Kontamination Korn + Boden, bei einer Verseuchung der Erde mit 1 g Brandsporen je qm.

Summary

The paper shows that infection due to bunt (or stinking smut) of wheat *Tilletia tritici* has in recent years been more frequent on account of increased field contamination. The method adapted for the laboratory and field testing of seed disinfectants for grain or earth or grain + earth "infection" has been explained.

The research work clearly indicates that seed disinfectants based on HCB (Benzene hexachloride) are much better than the usual mercury seed dressers, the reason being that gas is actively released. The HCB-seed disinfectants were very efficient in the control of earth "infection" as also of the double contamination grain + earth, the ground being infected at the rate of 1 g bunt spores to m^2.

Literaturverzeichnis

Fischer, G. W., 1952: *Tilletia brevifaciens*, sp. nov., causing dwarf bunt of wheat and certain grasses. Research Studies of the State College of Washington Vol. 20, No. 1, March.

Gassner, G., 1943: Zur Methodik der laboratoriumsmäßigen Prüfung von Beizmitteln. Phytopath. Ztschr. **14**, S. 303.

— —, 1951: Über Gaswirkung quecksilberhaltiger Beizmittel. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes **3**, Nr. 8, S. 113—117.

Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. Verlag Birkhäuser, Basel.

Lansade, M., 1945: Essais de lutte contre la carie du blé (*Tilletia tritici* [Bjerk.] Wint.). Annales des Epiphyties **11**, No. 3—4, p. 177—189.

— —, Ponchet, J., Guntz, M., 1951: Nouveau essais de traitement de la carie du blé: *Tilletia tritici* (Bjerk.) Wint. Annales des Epiphyties, Ser. C, **2**, p. 417—449.

Loste, J. et Ravault, L., 1952: Traitment des blés contaminés pa les spores de *Tilletia caries* (D.C.) contenues dans le sol. Physiatrie-phythopharmacie, no. 1, mars 1952, p. 2—7.

Rademacher, B., 1951: Gegen den Weizensteinbrand. Die Umschau in Wissenschaft und Technik, Nr. 19.

Yersin, H., Chomette, A., Baumann, G., Lhoste, J., 1945: L'Hexachlorobenzène, produit organique de synthèse utilisé dans la lutte contre la carie du blé. Compte-rendu des séances de l'Académie d'agriculture de France, tome 31, p. 24—27.

Zobrist, L., 1945: Prosat und Saatbeizmittel Maag, zwei Trockenbeizmittel zur Saatgutbehandlung. Berichte über Pflanzenschutz, Nr. 15, der Dr. R. Maag A. G., Dielsdorf.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Virusforschung, Braunschweig (vorm. Celle)

Notizen über Pfropfung und Akronekrose bei Kartoffeln

Von

E. Köhler

Mit 4 Abbildungen

Zur Ergänzung der bereits mitgeteilten Untersuchungen über die Überempfindlichkeitsreaktion von Kartoffelsorten gegenüber Virusinfektionen (Köhler und Ross 1951, Ross und Köhler, 1953, Ross 1953) wurden weitere Propfungen ausgeführt.

1. Das Verhalten voll anfälliger Sorten gegenüber hochnekrotisierenden X-Stämmen

Wie früher (Ross und Köhler 1953) mitgeteilt, lassen sich die Kartoffelsorten nach ihrem Verhalten gegen verschiedene Stämme des X-Virus in folgende drei Gruppen einteilen: 1. voll anfällige, die gegen alle Stämme bei Pfropfung nur mit Mosaik oder latenter Infektion reagieren, 2. voll

Abb. 1. Blätter von *Datura stramonium*. Links mit den Folgesymptomen des hochnekrotischen X-Stammes Ug. Rechts mit den Folgesymptomen des besonders schwachen X-Stammes Fl 4

überempfindliche (feldresistente), die gegen alle X-Stämme mit Akronekrose reagieren, und 3. teilüberempfindliche, die gegen einen Teil der Stämme überempfindlich, gegen einen anderen Teil mit Mosaik bzw. Latenz reagieren.

Es war noch zu untersuchen, wie sich die Kartoffelsorten der voll anfälligen Gruppe gegen sogenannte hochnekrotisierende Stämme verhalten, insbesondere ob sie sich gegen diese überempfindlich zeigen würden; solche Stämme hatten bisher noch nicht im Versuch gestanden. Als hochnekrotisierend (oder hochnekrotisch) bezeichnet man bekanntlich solche X-Stämme, die bei Verimpfung zu *Nicotiana tabacum, Nicotiana glutinosa* und *Datura stramonium* auf den geimpften Blättern selbst durchgehend-nekrotische Einzelherde und später an den Blättern des Zuwachses ± ausgedehnte Nekrosen mit Blattdeformierung erzeugen (Abb. 1 a). Zwei durch selektive Abimpfung aus Rohstämmen gewonnene hochnekrotisierende Stämme standen zur Verfügung; der eine Stamm (Ug) war aus der Kartoffelsorte Up-to-Date isoliert worden, der andere (X^{AL}) aus einer kranken Kartoffel unbekannter Sorte. Die Methode war dieselbe wie in den früheren Versuchen: Die Stämme wurden zunächst auf junge Tomatenpflanzen verimpft. Sproßenden dieser Tomaten wurden später als Reiser auf Einzelstengel („Augenstecklinge") der zu prüfenden Kartoffelsorte, die in Töpfen angezogen waren, aufgepfropft. Als Versuchssorten dienten „Parnassia" und „Heida", also Sorten, die der genannten Gruppe 1 angehören. Das Ergebnis war sehr bemerkenswert. Bei Parnassia kam es bei beiden X-Stämmen relativ schnell zur systemischen Infektion der Kartoffel-Unterlagen und der an ihnen entstandenen Seitensprosse. An diesen machte sich die Infektion dadurch bemerkbar, daß mehr oder weniger deutliche Ring- und Kurvennekrosen oder eine weniger markante, meist verwaschene Nekrosenbildung an den mittleren und oberen Blättern des Zuwachses auftraten (Abb. 2). Die Spitzenblätter blieben jedoch dauernd symptomfrei oder zeigten ebenfalls einzelne nekrotische Flecke, es kam jedoch nie zur

Abb. 2. Nekrotische Folgesymptome des hochnekrotischen X-Stammes X^{AL} auf Blättern der Kartoffelsorte Parnassia

Akronekrose, also einem Absterben der Triebspitzen. Somit erwies sich die Sorte nicht als überempfindlich gegen die beiden Stämme. Auch bei Heida kam es mit beiden X-Stämmen rasch zur systemischen Infektion. Diese äußerte sich aber gegenüber X^{AL} an den Blättern weniger durch Nekrosenbildung als durch eine kräftige gelbliche Mosaikscheckung (Abb. 3); in die hellen Flecken waren nur hier und da kleine nekrotische Stippen eingesprengt. Gegen den Stamm Ug verhielt sich Heida nicht anders als Parnassia. In keinem Falle reagierte Heida mit Akronekrose. Es zeigte sich also, daß sich die beiden voll empfänglichen Sorten im Prinzip auch gegen hochnekrotisierende X-Stämme nicht anders verhielten als gegen schwächere Stämme. Dies ist eine neue Stütze für die Auffassung, daß wir es bei der als Akronekrose sich äußernden Überempfindlichkeitsreaktion mit einer von der übrigen Nekrosenbildung unabhängigen Erscheinung zu tun haben.

Abb. 3. Mosaiksymptome des hochnekrotischen X-Stammes Ug an Blatt der Kartoffelsorte Heida

2. Das Verhalten der Sorte Fortuna gegen den sehr schwachen X-Stamm Fl 2

Die Sorte Fortuna gehört zu den wenigen, die als voll überempfindlich anzusehen sind, die also auf alle bisher geprüften X-Stämme mit Akronekrose reagierten. Ein auf Tabak und *Datura stramonium* besonders schwacher X-Stamm, deutlich schwächer als alle in den bisherigen Propfungen geprüften, ist der aus der Sorte Flava neuerdings isolierte Stamm Fl 4 (Abb. 1, rechts). Er wurde mit der oben beschriebenen Pfropfmethode auf Fortuna gebracht. Das Ergebnis war folgendes: bei allen fünf Pfropfungen, und zwar in den meisten Seitenzweigen, traten schwere Akronekrosen auf (Abb. 4). Die Triebe starben weit hinunter ab. Im übrigen kam keine eigentlich systemische Infektion an ihnen zustande; es bildeten sich nur spärliche zerstreute nekrotische Flecke auf den Blättern, wie sie für „erratische Infektionen" kennzeichnend sind. Es kam somit nicht zu einer Durchbrechung des dieser Sorte eigentümlichen Verhaltens; sie zeigte sich auch gegen den besonders schwachen Stamm überempfindlich.

Die vorstehend unter 1. und 2. mitgeteilten Ergebnisse lassen folgende Schlüsse zu: Das Vermögen, auf bestimmte X-Stämme mit Akronekrose zu reagieren, bzw. von dieser Reaktion verschont zu bleiben, ist eine spezifische Sorteneigenschaft. Es ist anzunehmen, daß die Überempfindlichkeit (bzw.

ihre Unterdrückung) auf der Interferenz bestimmter Radikale des Virus mit bestimmten Radikalen des Wirtsplasmas beruht. Die Tatsache, daß es auch eine Gruppe von teilüberempfindlichen Sorten gibt, also solchen, die zwar auf einen Teil der Stämme mit Akronekrose reagieren, auf einen anderen aber nicht, läßt darauf schließen, daß differente spezifische Radikale oder Komponenten sowohl auf seiten des Virus als auch auf seiten des Plasmas in Betracht kommen. Ferner ergibt sich: die Radikale des Virus und vice versa des Wirtsplasmas, die das Eintreten oder Ausbleiben der Akronekrose bestimmen, müssen verschieden sein von den Radikalen, die Blattnekrosen an Tabak, Datura und auch an Kartoffeln bedingen. Mit dieser Vorstellung sind auch anderweitige Ergebnisse vereinbar.

3. Das Verhalten der Sorte Fortuna gegen den Stamm Sab 48 des A-Virus

Daß Fortuna gegen den in der Sorte Allerfrüheste Gelbe verbreiteten Stamm des A-Virus überempfindlich reagiert, hat unlängst Ross (1953) gezeigt. Dasselbe trifft nach unseren im Jahre 1952 ausgeführten Pfropfungen auch für den etwas andersartigen A-Stamm Sab 48 (von der Sorte Sabina isoliert, vgl. hierüber KÖHLER 1952) zu. An vier von sechs Pfropfungen erschienen im Laufe von vier Wochen Akronekrosen an mehreren Seitentrieben.

4. Zur Physiologie des Propfversuchs

Die vorliegenden Erfahrungen bei Pfropfungen an überempfindlichen Sorten haben immer von neuem gezeigt, daß bis zum Auftreten der Akronekrose auch innerhalb einer Versuchsserie mit beträchtlichen Schwankungen zu rechnen ist. Bei einem Teil der Pfropfungen trat die Reaktion relativ schnell, bei einem anderen mehr oder weniger verzögert ein, bei einzelnen Pfropfungen mußte man unter Umständen fünf Wochen warten.

Ein besonders stark verzögerter Verlauf war, wie nachstehend geschildert werden soll, bei zwei Versuchsserien zu beobachten, bei denen die zu prüfenden gesunden Kartoffeltriebe der Sorten Aquila und Voran auf noch junge Triebe der X-tragenden Sorte Erstling gepfropft wurden. Die beiden genannten Sorten sind gegen dieses Virus überempfindlich und reagieren, wie bekannt, mit Akronekrose. Bei diesen Versuchen wurden die Erstling-Knollen zunächst im abgeschwächten Licht vorgetrieben, so daß sie gedrungene, kräftige Keime entwickelten. Von der Knolle wurden dann alle Keime bis auf einen besonders kräftigen entfernt und die Knollen dann in Töpfe ausgepflanzt, so daß die Keime mit Erde bedeckt waren. Es entwickelten sich rasch kräftige Triebe, auf die die Sproßspitzen der anderen Sorten gepfropft werden konnten. Die Erstling-Triebe waren bei der Pfropfung, die am 10. Juni erfolgte, 10 bis 15 cm hoch. Sie wurden in 4 bis 7 cm Höhe durch einen in einem Nodus geführten Querschnitt ihres Oberteils beraubt. Die am basalen Ende keilförmig zugeschnittenen Reiser wurden in den Spalt gepfropft; von beiderlei Kombinationen wurden zehn Pfropfungen hergestellt. Betrachten wir zunächst den Symptomverlauf bei Voran: Bei Nr. 4 kam keine Verwachsung zustande und Nr. 6 fiel wegen Fäulnis aus. Bis

zum 4. Juli hatten die Pfropfreiser bei den Nummern 1, 2, 7, 8 und 9 Akronekrosen entwickelt. Zerstreute Nekrosen auf den Blättern waren bei Nr. 2 und 3 erschienen. Keinerlei Symptome waren trotz offenbar bester Verwachsung bei Nr. 5 und 10 zu finden. Am 10. Juli schieden Nr. 1 und 2 wegen Fäulnis aus; bei Nr. 3 war jetzt Akronekrose festzustellen. Nr. 5 und 10 waren weitergewachsen, ohne Symptome zu zeigen, und auch noch am 17. Juli blieb dieser Zustand trotz andauernden Wachstums derselbe. Erst bei der am 24. Juli vorgenommenen Überprüfung zeigte Nr. 10 Nekrosen an den oberen Blättern und gleichzeitig die Akronekrose. Bei Nr. 5 wurden am 24. Juli gleichfalls Nekrosen an den Blättern festgestellt, die Akronekrose war jedoch erst am 30. Juli, also nach rund sieben Wochen vorhanden. Die kräftigen Reiser von Nr. 5 und 10, an denen die Akronekrose zuletzt auftrat, hatten mit 30 bis 40 cm die größte Höhe von allen erreicht.

Abb. 4. Mit dem X-Stamm Fl 4 infizierter Tomatentrieb auf Stengel der Kartoffelsorte Fortuna gepfropft. Der letztere hat zwei Seitentriebe gebildet, die schwere Akronekrose zeigen

Etwas schneller reagierten die Aquila-Reiser. Bei Nr. 6 kam keine Verwachsung zustande. Am 4. Juli wurde bei Nr. 2, 8, 9 und 10, am 10. Juli bei Nr. 4 und am 27. Juli bei den restlichen Nummern 1, 3, 5 und 7 Akronekrose festgestellt. Nr. 6 fiel wegen ungenügender Verwachsung aus. Auch hier zeigte sich die Akronekrose bei den am besten entwickelten Pflanzen zuletzt.

Wie sind die auffälligen Schwankungen zu erklären? Die Tatsache, daß die Akronekrose gerade bei guter Verwachsung der Pfropfpartner am längsten auf sich warten ließ, läßt darauf schließen, daß das Vordringen des Virus aus den Unterlagen in die Sproßspitzen der Reiser durch deren lebhaftes

Wachstum sich verzögerte; sie spricht gegen die Annahme, daß etwa die erforderliche Phloemverbindung zwischen Reis und Unterlage bei den am besten entwickelten Pfropfreisern besonders spät zustande gekommen und daß darin die Ursache der Verzögerung zu suchen sei. Vielleicht gehen diese Überlegungen aber fehl; die Frage bedarf jedenfalls weiterer Untersuchung.

Zusammenfassung

1. Auch mit zwei „hochnekrotisierenden" Stämmen des X-Virus konnte bei den nicht überempfindlichen Kartoffelsorten Heida und Parnassia durch Pfropfung keine Akronekrose hervorgerufen werden.

2. Die gegen sämtliche bisher geprüften X-Stämme überempfindliche Sorte Fortuna erwies sich auch gegen den neuen, besonders schwachen Stamm Fl 4 des X-Virus überempfindlich.

3. Die Sorte Fortuna, die gegen das in der Sorte Allerfrüheste Gelbe enthaltene A-Virus überempfindlich ist, bewies diese Eigenschaft auch gegen den aus Sabina isolierten A-Stamm Sab 48.

4. Bei Pfropfungen der Sorten Aquila und Voran auf X-Virus-tragende Erstling war das Erscheinen der Akronekrose zum Teil auffällig verzögert, und zwar augenscheinlich gerade dann, wenn die Verwachsung besonders gut gelungen war.

Literaturverzeichnis

1. Köhler, E. und Ross, H., 1951. Das Verhalten deutscher Kartoffelsorten gegenüber verschiedenen Stämmen des X-Virus im Pfropfversuch. Züchter **21**, 179—185.

2. Ross, H., 1953. Über die Resistenz der Kartoffelsorten gegen das A-Virus auf der Basis der Überempfindlichkeit. 1. Mittlg. Z. Pflanzenzüchtung, **32**, 153—166.

3. Ross, H. und Köhler, E., 1953. Das Verhalten deutscher Kartoffelsorten gegenüber verschiedenen Stämmen des X-Virus im Pfropfversuch, II. Züchter **23**, 72—86.

Biological Section, Forest Products Research Institute,
Bratislava 9, Czechoslovakia

Synopsis of the genus *Catalpa (Bignoniaceae)*
Part VII (Addenda 2) *)

By

J. Paclt

With 4 figures

The present supplement comprises two chapters, namely on (I) *Tubercularia* dieback of *Catalpa*, and (II) Omitted data.

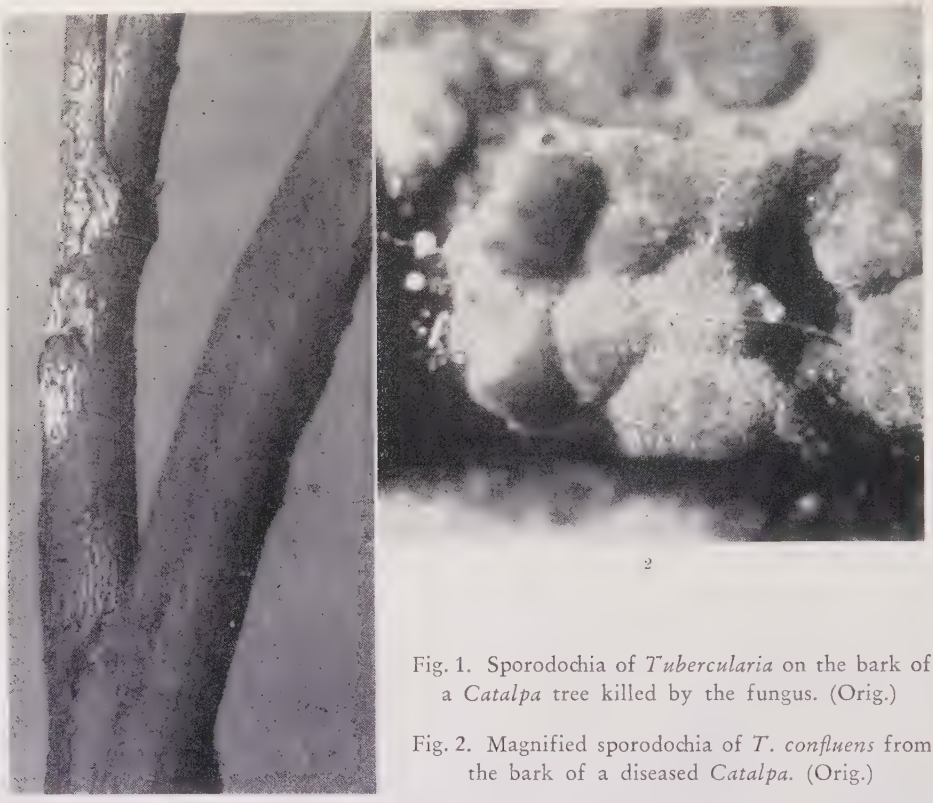
(I) *Tubercularia* dieback of *Catalpa*

So far the occurrence of *Tubercularia confluens* Pers. ex Corda has been apparently of no serious pathological consequence in the European cultivation of *Catalpa*. Recently I have observed some trees of *C. bignonioides* showing a dieback (Fig. 1) caused by that fungus. *Tubercularia* enters the host probably through wounds near the tip. There appear numerous sporodochia on the dead bark of the killed twigs and branches (Fig. 2). These sporodochia are pinkish coloured hemispherical structures. Infected wood may show a greyish discoloration changing locally to a stage of decay (Fig. 3). In addition to the invading fungus, another species, *Schizophyllum commune* Fr., has been present on the stem of several trees injured. It may be that the stage of decay of the sapwood is due eventually to the associated *Schizophyllum*. Under the outer layers of sapwood, whitish mycelium is present. Hyphae of *Tubercularia confluens* occur in both the sapwood vessels and parenchymatous tissue of the pith (Fig. 4). Mites of the group *Detriticolae* can carry the fungus. There occurs on the died bark of the materials examined another fungus which has been identified by Dr. E. Müller, the Conservator of the Institut für spezielle Botanik, Eidg. Technische Hochschule, Zürich. According to this identification, for which I am greatly indebted to him, the fungus is *Diplodia mutila* (Fr.) Mont., a species not previously recorded from *Catalpa* (see Sydowia 5: 164, 1951). The localities of the *Catalpa* trees injured are: Bratislava-Mlynská Dolina, and Bratislava — Petržalka.

*) For Part VI (Addenda [1]) see Phyton 5: 118—127, 1953.

(II) Omitted data

In 1925, KÜSTER described several types of pathological tissues in *Catalpa* to which no reference has been made in the foregoing parts of the Synopsis. — In 1928, STAPP quotes an old observation by DOWNING („Blight of pear tree", J. rur. Art & rur. Taste 1: 58, 1846/47) who referred to the



1 2

Fig. 1. Sporodochia of *Tubercularia* on the bark of a *Catalpa* tree killed by the fungus. (Orig.)

Fig. 2. Magnified sporodochia of *T. confluens* from the bark of a diseased *Catalpa*. (Orig.)

so-called fire blight of *Catalpa,* a bacteriose due to *Bacillus amylovorus* (BURRILL) TREV. — In 1938, AUE mentioned the larvae of a moth, *Sphinx ligustri* L., to occur on the leaves of *Catalpa bignonioides* and *Paulownia tomentosa* in Europe; likewise this pest has not been referred to in the Part 5 of our Synopsis. — Further data omitted concern the viscosity of the & 327). — *Septoria macrocatalpae* PACLT: type preserved at the Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

Zusammenfassung

Es wird ein *Tubercularia*-„Welken" von *Catalpa* beschrieben. Der Erreger dieser Krankheit (*T. confluens*) zerstört das Holz der lebenden

Bäume. Es wird ferner über einige in den vorigen Teilen der Synopsis vernachlässigte Ergebnisse anderer Autoren kurz berichtet.

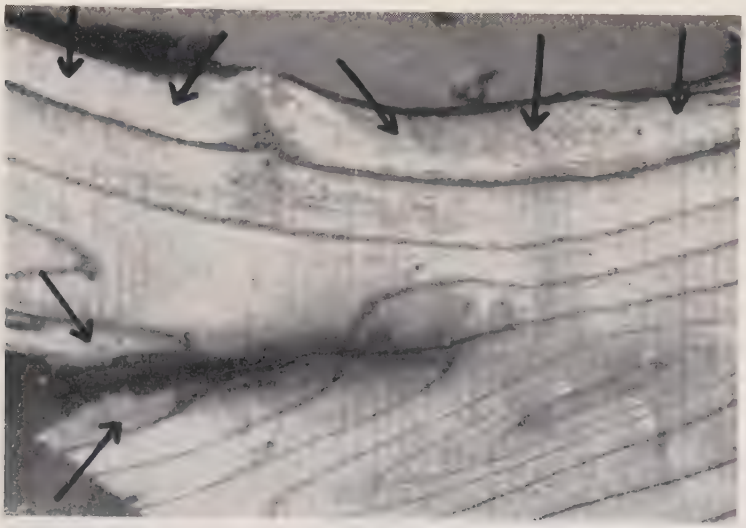


Fig. 3. Decay of the sapwood of *Catalpa* due to *Tubercularia* invasion. (Orig.)

Fig. 4. Hyphae of *Tubercularia* occurring in the pith of diseased wood of *Catalpa*. Photomicrograph, Reichert Obj. 60 : 1, Ok. 10 ×. (Orig.)

References

Aue, A. U., 1938: Entomologisches Allerlei. XV. Entomol. Rundschau **55**, 78.

Kelley, A. P., 1930: Mycorrhizal studies. 1. Mycorrhiza of Mont Alto nursery stock. J. Forestry **28**, 34—41.

Küster, E., 1925: Pathologische Pflanzenanatomie. **3** ed., Jena.

— —, 1951: Die Pflanzenzelle. **2** ed., Jena.

Stapp, C., 1928 in Sorauer's Handbuch der Pflanzenkrankheiten **2**, 1, 123. Paul Parey, Berlin.

Kurze Mitteilungen

Laboratorio Sperimentale Agrario, Società Montecatini, Signa (Firenze)

Un metodo diagnostico per il riconoscimento del decorso del „mal secco" degli agrumi

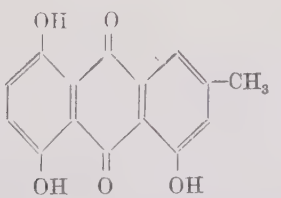
Brunetto Bazzi e Pietro Scrivani

Il micelio del *Deuterophoma tracheiphila*, agente del „mal secco" degli agrumi, avanza entro la pianta colpita provocando un graduale disseccamento del ramo e della branca invasa con progressione dall'alto verso il basso. Asportando la corteccia della parte malata, risultano visibili sul legno striature caratteristiche di color rosso arancione, interessanti uno o più gruppi di vasi a seconda della gravità dell'attacco. Tali striature spiccano maggiormente in corrispondenza della zona delimitante il tratto ancora verde da quello in via di essiccamento; in questo punto l'isolamento del patogeno è più facile.

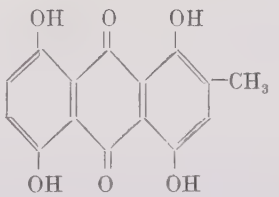
Non sempre però la tipica colorazione dei vasi si presenta molto evidente; l'esame macroscopico del legno messo a nudo non è sufficiente ad indicare con bastante chiarezza il tratto dei vasi ancora sani da quello già infetto. Anche nel caso di infezione appena agli inizi, è difficile riconoscere i vasi sani da quelli infetti pur ricorrendo all'esame microscopico.

Il metodo da noi adottato permette di differenziare il legno sano da quello malato, anche quando ad occhio nudo o al binoculare non è possibile apprezzare la presenza della pigmentazione.

Nello studio sistematico dei prodotti del metabolismo del *D. tracheiphila* presenti nel micelio in cultura artificiale è stata rivelata la presenza di due pigmenti, risultati essere rispettivamente[1]):



4, 5, 8-triossi, 2-metilantrachinone



1, 4, 5, 8-tetraossi, 2-metilantrachinone

1) A. Quilico, C. Cardani, F. Piozzi e P. Scrivani, Accademia nazionale dei Lincei. Rend. Sc. fis. Mat. naturali, Vol. XII, 1952, 650—657.

In base alla supposizione che i pigmenti prodotti dal fungo in natura fossero identici a quelli ottenuti in cultura artificiale o comunque fossero anch'essi degli antrachinoni ossidrilati, abbiamo provato ad applicare anche nel nostro caso una reazione già adottata per scopi farmacognostici alle droghe emodiniche.

Il procedimento adottato è il seguente: dal ramo sospetto si asporta la corteccia in modo da mettere a nudo il legno; con un batuffolo di cotone, imbevuto di alcool, si inumidisce la superficie e poi vi si lasciano cadere alcune gocce di ammoniaca al 10 % in modo da ricoprire tutta la parte in esame. I vasi infetti dopo alcuni secondi risulteranno fortemente colorati in rosso arancione. Nei casi nei quali la pigmentazione era evidente già in precedenza, essa risulterà notevolmente rinforzata in conseguenza del trattamento.

L'aspetto del legno sicuramente sano differisce nettamente da quello infetto; il legno sano infatti, dopo il trattamento con alcool ed ammoniaca, assume una colorazione giallo-verdognola, poco dissimile da quella che si riscontra normalmente su un rametto appena scortecciato.

Applicando questo metodo abbiamo ripetutamente esaminato materiale infetto proveniente dalla Sicilia, da Fondi (Formia) ed ottenuto in loco in seguito ad infezioni artificiali; è stato così possibile seguire con maggiore accuratezza il percorso dei vasi infetti nei piccioli e nelle nervature mediane di foglie e in sezioni di rametti e di fusti. Da notare che è stato isolato sempre il *D. tracheiphila* dal materiale nel quale la reazione cromatica è risultata positiva, ad eccezione dei casi nei quali essa era molto debole. Ciò lascerebbe pensare che il prodotto pigmentante sia escreto in vicinanza delle ife (come del resto si riscontra nelle colture in agar) e che non sia trasportato molto lontano, come risulterebbe anche dalla scarsa solubilità dei prodotti ricavati dalle colture.

Riteniamo che tale metodo possa trovare utile impiego diagnostico. E' pratica comune procedere all'asportazione dei rami malati mediante una potatura abbondante che comprenda anche parte del legno apparentemente ancora sano, in modo da ridurre per quanto possibile il rischio di lasciare ancora del legno infetto. L'uso della reazione cromatica consigliata potrà dare utili indicazioni a questo scopo[2]).

[2]) Si ringrazia l'Istituto di Patologia Vegetale dell'Università di Milano per l'assistenza prestataci.

Besprechungen

Handbuch der Pflanzenkrankheiten, begr. von P. Sorauer, herausgegeben von O. Appel und H. Blunck. Bd. 4, Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen, 1. Teil, 2. Lieferung. Berlin u. Hamburg, Paul Parey, 1953, 518 + VI S. 154 Abb. Geb. 116,— DM, brosch. 112,— DM.

Der Umfang dieses Werkes, das eine Parallele in der Weltliteratur nicht hat und also eine spezielle Äußerung deutschen Fleißes ist, wächst naturgemäß an Umfang mit jeder neuen Auflage und mit der Zeitspanne, die zwischen den einzelnen Lieferungen liegt. Aus den von den Herausgebern beabsichtigten sechs Bänden werden mehr. Schon aus dem ersten „Band", der die nichtparasitären Krankheiten umfaßte und 1933/1934 erschien, wurden zwei „Halbbände", die aber jeder ein Band waren; aus dem beabsichtigten Band 4 für den ersten Teil der tierischen Schädlinge, der ab 1949 erschien, sind zwei „Lieferungen" geworden, die jede ein Band sind, und fünf weitere werden nötig sein, im ganzen sieben Lieferungen vom Umfang je eines Bandes für die tierischen Schädlinge.

Die zweite liegt jetzt vor, die die *Lepidopteren* und die *Trichopteren* betrifft, mit Beiträgen von W. Döhler (*Trichoptera*), H. Heddergott, H. Menhofer, F. P. Müller, G. Schmidt, W. Speyer und H. Weidner. Der die einzelne Schmetterlingsart betreffende Teil ist, wie nicht anders zu erwarten, sehr zusammengedrängt, um Vollständigkeit der zahllosen in Betracht kommenden Arten zu erreichen. Die Forstschädlinge, z. B. die Kieferneule und der Kiefernspanner, sind kürzer als die landwirtschaftlich wichtigen Arten behandelt worden, dies offenbar mit Rücksicht auf die vorhandenen zusammenfassenden forstlichen Werke.

Man muß an irgendeinem Teil des Werkes mitgearbeitet haben, wie der Referent, um voll ermessen zu können, welchen Aufwand von Zeit und Fleiß ein Beitrag dazu erfordert, besonders die Bibliographierung. Zwar wird das Zusammenbringen des Stoffes durch Benutzung der englichen Reviews bedeutend erleichtert, wenn nicht gar erst ermöglicht, aber gleichwohl ist die Arbeit eine uneigennützige um der Sache willen, für die man den Autoren dankbar sein muß, nicht zuletzt dem Herausgeber, und so auch dem Verlag für sein Risiko. Aber als konkurrenzlos wird das Werk auch außerhalb Deutschlands seine Bezieher haben, und in Deutschland ist es für viele unentbehrlich. Der Zweck des Werkes, eine schnelle Orientierung über das Wichtige, ist in der Ausführung durchweg erreicht.

Die Beiträge zum Handbuch sind natürlich von nicht ganz gleichem Wert. Zu idealer Ausführung bedarf es der Routine, der Erfahrung, umfangreicher Literaturkenntnis, der Fähigkeit zum ökologischen Denken u n d der Bereitwilligkeit, dieses alles in den Dienst einer für den Verfasser nur mäßig dankbaren Aufgabe zu stellen. Daß das ökologische Denken bei den meisten Zoologen wenig ausgebildet ist, kann nicht wundernehmen angesichts der Vernachlässigung, die der ökologische Unterricht der Universitäten auf dem zoologischen Gebiet zu erfahren pflegt. Man merkt das auch in diesem Handbuch hier und da. Aber das im ganzen Erreichte rechtfertigt die darauf verwandte Mühe von Herausgeber und Verfasser.

Das Register ist durch die Aufnahme der Pflanzennamen sehr dankenswert bereichtert worden. Eine Anregung dazu sei erlaubt: Bei den einzelnen Namen von Schädlingen sind oft mehrere, nicht selten viele Seitenzahlen angegeben, ohne daß ersichtlich ist, welche davon die Stelle betrifft, die die Art in der Reihenfolge einnimmt. Diese Stelle sollte in folgenden Lieferungen durch Kursiv- oder Fettdruck hervorgehoben werden.

K. Friederichs, Göttingen

Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Bd. 5, Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen, 2. Teil 1. Lieferung, 1953, 311 + VI S. 89 Abb. Geb. 80,— DM.

Auf die zweite Lieferung des vierten Bandes ist die erste des fünften schnell gefolgt. Die Darstellung mußte auch hier auf das den Verfassern als das Wichtigste erscheinende beschränkt und kurz und prägnant gefaßt sein, wie schon in der ersten von L. Reh besorgten Auflage. Trotzdem verdoppelten sich manche Abschnitte annähernd. Man fragt sich, wohin das schließlich führen wird. Aber das gilt für alle Handbücher.

Die *Dipteren* machen etwa die Hälfte dieser Lieferung aus, bearbeitet von W. Hennig, mit Ausnahme der *Tipuliden*, für die H. Maerks zeichnet. Es folgen die *Hymenoptera*, von H. Francke-Grosmann (Blattwespen), E. Otten (Gallwespen und Zehrwespen) und K. Gösswald (Ameisen, Faltenwespen und einige Bemerkungen über Bienen). Die Beiträge sind allgemein gut illustriert, der von Gösswald bringt auch viele Habitusbilder.

K. Friederichs, Göttingen

Verona, O., Malattie nutrizionali delle piante coltivate. Bologna, Edizioni Agricole, 1953. 3. Auflage. 207 Seiten, 37 Abb., 10 Farbtafeln. Preis 1300 Lire.

Das vorliegende Buch vermittelt auf knappem Raum eine übersichtliche Darstellung der Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiete der Ernährungsstörungen bei Pflanzen. Manche Krankheitserscheinungen, für die sich kein Erreger parasitärer Natur finden ließ, konnten letzten Endes auf ernährungsphysiologische Ursachen zurückgeführt werden. Mangel oder Überschuß an bestimmten Nährstoffen beeinflussen die Entwicklung der Pflanze und die Funktionen ihrer Organe in hohem Maße; Degenerationen und Deformationen, Verfärbungen und Nekrosen an Stengeln, Blättern und Früchten können die Folge sein. Diese äußerlich erkennbaren Schädigungen sind vielfach wenig spezifisch und die Ermittlung ihrer Ursachen entsprechend schwierig. Die den manifesten Symptomen vorausgehenden Störungen der Zellfunktionen und Enzymreaktionen bleiben im einzelnen zum großen Teil noch zu klären.

In den Kapiteln über die einzelnen Nährstoffe und Spurenelemente gibt der Verfasser eine anregende Zusammenfassung der Untersuchungen über ihr Vorkommen und ihre Funktion in Boden und Pflanze, über die Wirkungen von Mangel und Überschuß, Beeinflussung der Krankheitsresistenz usw. Er faßt den Text bewußt kurz und verweist für die einzelnen Arbeiten der zitierten Autoren auf anderweitige Bibliographien. Eine tabellarische Übersicht der Mangelerscheinungen bei verschiedenen Kulturpflanzen ergänzt das willkommene, mit Abbildungen und Farbtafeln sorgfältig ausgestattete Werk. Ernst Gäumann

Aus dem Agrikulturchemischen Institut der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich

Über Störungen des Spurenelementhaushaltes der Pflanzen durch Welketoxine

(Literaturbesprechung)

Von

H. Deuel

Inhalt: Einleitung. — § 1. Chelatbildner und Metallchelate. — § 2. Bedeutung von Spurenelementen für den Organismus. — § 3. Beeinflussung des Spurenelementhaushaltes durch zugesetzte Chelatbildner oder Metallchelate. — § 4. Welketoxine als Chelatbildner. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

Einleitung

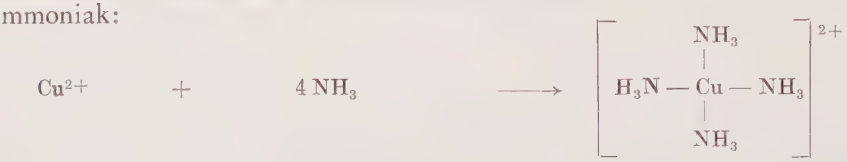
Die phytopathogenen Organismen bedienen sich verschiedenster Methoden, um ihre Wirte zu schädigen (Gäumann, 1951). Zu diesem Zweck werden eine größere Anzahl von Verbindungen eingesetzt. In den letzten Jahren hat man den Wirkungsmechanismus einiger dieser Stoffe erkannt: enzymatischer Abbau von Zellwandbestandteilen, Verstopfung von Leitungsbahnen, Flockung von Eiweißen, Verdrängung der Wuchsstoffe von ihren Wirkungsstellen (Woolley, 1952), Blockierung aktiver Thiolgruppen usw. Von einigen Welketoxinen (Gäumann, 1951; Gäumann, Naef-Roth, Reusser und Ammann, 1952) hat sogar die chemische Konstitution aufgeklärt werden können; dadurch ist natürlich das Studium der Wirksamkeit dieser Stoffe erleichtert.

Einige Beobachtungen lassen vermuten, daß die Wirksamkeit gewisser Welketoxine auf ihre Fähigkeit zurückgeführt werden kann, Komplexe, besonders Chelate, mit Metallionen der Spurenelemente zu bilden. Diese Vermutung soll im folgenden eingehender diskutiert werden.

§ 1. Chelatbildner und Metallchelate

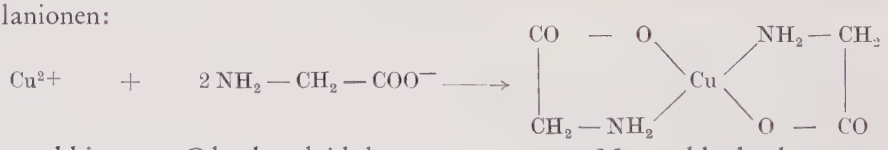
Unter Metallkomplexen (Werner, 1905; Bjerrum, 1950; Hein, 1950; Eméleus und Anderson, 1952) versteht man mehr oder weniger stabile Ver-

bindungen aus Metallionen und Komplexbildnern. Die letzteren sind anorganische oder organische Moleküle und Ionen, die dank vorhandener aktiver Gruppen (vor allem Stickstoff-, Sauerstoff- oder Schwefelatome mit ihren einsamen Elektronenpaaren) leicht Metallionen anlagern. Die sog. koordinative oder komplexe Bindung zwischen Metallion und Komplexbildner kann ionischen bis kovalenten Charakter besitzen. Man kennt heute eine sehr große Anzahl von Metallkomplexen. Praktisch von allen Metallionen sind Komplexe beschrieben worden. Die Schwermetallionen, die keine Edelgaskonfiguration aufweisen, neigen besonders zu Komplexbildung. Charakteristisch für ein bestimmtes Metallion ist neben seiner Wertigkeit seine Koordinationszahl; diese gibt an, wie viele aktive Gruppen der Komplexbildner um dieses Metallion angeordnet sind. Als einfaches Beispiel diene die Komplexbildung zwischen dem Kupferion (zweiwertig, Koordinationszahl 4) und Ammoniak:



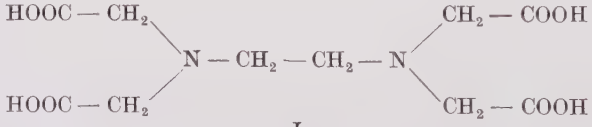
Metallion Komplexbildner Metallkomplex

Die Metallchelate sind Metallkomplexe besonderer chemischer Konstitution (MARTELL und CALVIN, 1952; SCHWARZENBACH, 1952). Hier trägt ein Ion oder Molekül des Komplexbildners, Chelatbildner genannt, zwei oder mehrere aktive Gruppen, die sich an der Fixierung des Metallions beteiligen. Die gebildeten Metallchelate sind daher zyklische Komplexverbindungen, und das Metallion ist an der Ringbildung beteiligt. Als einfaches Beispiel diene die Chelatbildung zwischen dem Kupferion und den bifunktionellen Glykokollanionen:



Metallion Chelatbildner Metallchelat

Ein eingehend untersuchter Chelatbildner ist z. B. die Äthylendiamintetraessigsäure (I), die recht stabile, wasserlösliche Metallchelate bildet (SCHWARZENBACH und ACKERMANN, 1947).



I

Im Metallchelat wird das Metallion vom Chelatbildner ähnlich wie die Beute von der Krebszange (gr. χηλη') festgehalten (MORGAN und DREW, 1920). Obwohl Selektivität gewisser Chelatbildner für bestimmte Metallionen beobachtet worden ist, nimmt im allgemeinen die Stabilität der Kom-

plexe für zweiwertige Kationen in folgender Reihenfolge zu (Mellor und Maley, 1947, 1948):

$$Mg < Mn < Fe < Cd < Co,\ Zn < Ni < Cu.$$

Die zyklisch gebauten Metallchelate zeichnen sich teils durch recht große Stabilität und verschiedene andere interessante Eigenschaften aus; diesen Tatsachen verdanken diese Verbindungen ihre wissenschaftliche und technische und wohl auch biologische Bedeutung.

§ 2. Bedeutung von Spurenelementen für den Organismus

Die Mineralstoffe haben im Organismus wichtige Funktionen zu erfüllen. Durch Untersuchungen der letzten Jahrzehnte ist sichergestellt worden, daß zahlreiche Spurenelemente, u. a. die Kationen des Mg, Mn, Fe, Co, Zn und Cu, lebensnotwendig sind (Green, 1941; Stiles, 1946; Warburg, 1948; Wallace, 1951). Die Metallionen sind beispielsweise als Koenzyme wirksam. So hat man bei ungenügender Versorgung mit Fe und Cu eine verminderte Aktivität bestimmter Enzyme im Organismus beobachtet (Brown und Hendricks, 1952). Das für den normalen Ablauf der Lebensfunktionen nötige dynamische Gleichgewicht zwischen den (teils antagonistisch wirkenden) Metallionen scheint sehr leicht gestört werden zu können. Viele physiologische Krankheiten sind durch Mangel oder Überschuß an Spurenelementen bedingt.

Die lebenswichtigen metallischen Kationen können wohl kaum zu ihren spezifischen, biologischen Wirkungen Anlaß geben, wenn sie im Zellsaft frei gelöst sind. Man muß annehmen — und dies konnte teils auch gezeigt werden —, daß die Metallionen (wohl sogar das Kaliumion) an Eiweißen, Pyrrolverbindungen, Phosphorsäureestern oder anderen Substanzen koordinativ fixiert sind. Danach können die Metallionen erst in Verbindung mit natürlichen Chelatbildnern ihre charakteristische Tätigkeit entfalten. Schon sehr früh im Laufe der Entwicklungsgeschichte dürften sich Metallchelate als wertvoll im Kampf ums Dasein erwiesen haben. Da Moleküle mit chelatbildenden Gruppen in den Organismen zahlreich sind, sind Metallchelate nicht allein an normalen physiologischen Vorgängen, sondern auch am Zustandekommen von Krankheiten beteiligt.

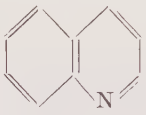
§ 3. Beeinflussung des Spurenelementhaushaltes durch zugesetzte Chelatbildner oder Metallchelate

Durch Zugabe von Chelatbildnern kann man nun dem Organismus Metallionen entziehen oder durch Zugabe von Metallchelaten ihn mit denselben überschwemmen. Bei Pflanzen ist eine solche Beeinflussung teils einfacher möglich, wenn diese Verbindungen wasserlöslich sind, da sie dann für die Wurzel leichter aufnehmbar und im Organismus wanderungsfähiger sind.

Derartige Applikationen können zur Schädigung des Organismus führen, und zwar durch Herbeiführung eines Mangels an lebenswichtigen Spurenelementen oder durch Erzeugung zu hoher, toxischer Konzentrationen an Metallionen. Deshalb kommen Chelatbildner oder Metallchelate als Desinfektionsmittel, Chemotherapeutika, Insektizide, Fungizide und Herbizide in Frage und werden dazu bereits bewußt oder unbewußt verwendet (ALBERT, 1951; GAUSMANN, RHYKERD, HINDERLITER, SCOTT und AUDRIETH, 1953; BUU HOÏ und DAT XUONG, 1953).

Über die biologischen Wirkungen der Chelatbildner und Metallchelate besteht bereits eine umfangreiche Literatur, die hier nur teilweise kurz besprochen werden soll.

Am eingehendsten wurde wohl bisher 8-Hydroxychinolin (II) untersucht, das wenig wasserlösliche Schwermetallchelate bildet. Seine toxische Wirkung auf einige Pilze kann durch Zn-Salze aufgehoben werden (ZENTMYER und HORSFALL, 1943; ZENTMYER, 1944); bei *Botrytis cinerea* gelang dies jedoch nicht (BLUMER und GONDEK, 1946). Die starke Giftwirkung dieser

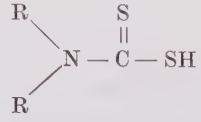


II

Verbindung auf gram-positive Bakterien soll auf der Erzeugung eines Co-Mangels beruhen (ALBERT, RUBBO, GOLDACRE und BALFOUR, 1947).

Der durch Metallchelate erzeugte Überschuß an Metallionen wirkt oft toxischer als der durch die entsprechenden Chelatbildner bewirkte Mangel an lebenswichtigen Metallionen. Der Eisenkomplex des 8-Hydroxychinolins ist für *Staphylococcus aureus* bedeutend giftiger als 8-Hydroxychinolin selbst (RUBBO, ALBERT und GIBSON, 1950; ALBERT, 1951).

Andere heterozyklische Verbindungen, auch mit Sauerstoff und Schwefel als Heteroatomen, rufen ähnliche Wirkungen wie das 8-Hydroxychinolin hervor. Verschiedenen Chelatbildnern kommt in Gegenwart von Kupferionen eine erhöhte tuberkulostatische Wirksamkeit zu (ERLENMEYER und Mitarbeiter, 1948, 1951, 1952, 1953). In ähnlicher Weise haben sich im Pflanzenschutz Eisen- und Zinkkomplexe der Dialkyl-dithiocarbaminsäure (III) besser bewährt als die Säure selbst (FREAR, 1951).



III

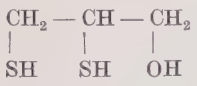
Man darf hier wohl nicht, wie dies oft geschieht, die Metallchelate als die wirklichen Giftstoffe betrachten. Sie wirken dadurch toxisch, daß sie z. B.

an Metallenzymen katalytisch wirksame Kationen durch andere ersetzen (Erlenmeyer, Bäumler und Roth, 1953). Das Fremdion, das mit Hilfe des Chelatbildners herangebracht wird, bildet wahrscheinlich mit dem Apoenzym ebenfalls einen Komplex, der jedoch enzymatisch und physiologisch inaktiv ist. Dieses Fremdion wirkt also nach Art eines Antimetaboliten (Woolley, 1952).

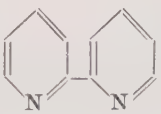
Das Studium der Wirkung der Chelatbildner wird durch den Umstand erschwert, daß diese komplexbildenden Verbindungen meistens keine Selektivität für bestimmte Ionen zeigen. Ihre toxische Wirkung ist daher selten durch Zusatz einzelner Metallsalze aufzuheben. Es sollte jedoch möglich sein, die Toxizität durch Zusatz einer geeigneten Mineralsalzmischung weitgehend zu vermindern.

Äthylendiamintetraessigsäure sollte ein sehr geeignetes Reagens sein, um den Einfluß der Entfernung oder Zufuhr von Metallionen auf Pflanzen und Tiere zu studieren (Martell und Calvin, 1952). Diese Verbindung ist wegen ihrer Toxizität für Pflanzen unbrauchbar, um Spurenelemente aus Nährlösungen zu entfernen (Heck und Bailey, 1950). Das Na-, nicht jedoch das Ca-Salz ist für Kaninchen giftig (Popovici, Geschickter, Reinovsky und Rubin, 1950).

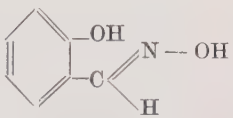
Man hat übrigens auch von vielen anderen synthetischen Chelatbildnern die physiologischen Eigenschaften untersucht (James, 1953), z. B. von 2,3-Dimercaptopropanol (BAL) (IV), α,α'-Dipyridyl (V) und Salizylaldoxim (VI).



IV



V



VI

Es ist durchaus verständlich, daß unter gewissen Bedingungen und bei geeigneter Dosierung auch Förderungen des Wachstums durch die Chelatbildner oder die Metallchelate eintreten können. So können Chelatbildner toxische Ionen abfangen und dadurch unschädlich machen, oder Metallchelate können die Versorgung mit schwer aufnehmbaren Metallionen verbessern. Es ließ sich z. B. mit dem Eisenkomplex der Äthylendiamintetraessigsäure eine verbesserte Eisenversorgung von Pflanzen im Laboratorium (Jacobson, 1951) und im Felde (Stewart und Leonard, 1952; Camp, 1953) erzielen. Durch Äthylendiamintetraazetat wird die Ausscheidung von giftigen Yttriumionen aus dem tierischen Körper stark beschleunigt (Cohn, Gong und Fishler, 1953).

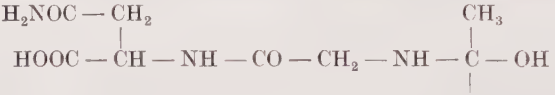
Bei Zugabe von Chelatbildnern oder Metallchelaten zu einem Gemisch mehrerer Organismenarten kann aus verschiedenen Gründen (Aufnehmbarkeit, Spurenelementbedarf usw.) die eine Art stärker als die andere gehemmt oder gefördert werden.

§ 4. Welketoxine als Chelatbildner

Viele chemische Verbindungen in der lebenden Zelle können als Chelatbildner betrachtet werden. Wenn nun ein Organismus eine derartige organische Substanz nach außen abgibt, kann diese von einem anderen Organismus aufgenommen werden. Gewisse Antibiotica wirken als Chelatbildner; Terramycin und Aureomycin haben eine hohe Affinität für Schwermetallionen (ALBERT, 1953; SAZ und SLIE, 1953). Die antibakterielle Wirkung von Polymyxin kann durch verschiedene zweiwertige Kationen aufgehoben werden (NEWTON, 1953).

Die chemische Konstitution der Welketoxine Lycomarasmin und Fusarinsäure weist darauf hin, daß auch diese Verbindungen Metallchelate bilden und daher durch Störung des Spurenelementhaushaltes der Pflanze toxisch wirken können.

Das Lycomarasmin (VII) zeigt in seinem nicht genau geklärten Molekülbau (PLATTNER und CLAUSON-KAAS, 1945; PLATTNER, NAGER und BOLLER, 1948; WOOLLEY, 1948) eine gewisse Ähnlichkeit mit der Äthylendiamintetraessigsäure. Bereits bei der Isolierung erwies sich, daß dieses Toxin einen gut kristallisierten Kupferkomplex bildet. Der Eisenkomplex wirkt auf

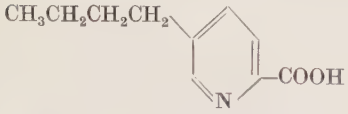


VII

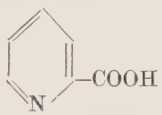
die Tomate bedeutend toxischer als das Lycomarasmin selbst (CLAUSON-KAAS, PLATTNER und GÄUMANN, 1944; GÄUMANN, NAEF-ROTH und MIESCHER, 1950; GÄUMANN, KERN und SAUTHOFF, 1952; GÄUMANN und NAEF-ROTH, 1953). Auf die Beziehung zwischen Komplexbildungsvermögen und Toxizität des Lycomarasmins wurde kürzlich hingewiesen (DIMOND und WAGGONER, 1952, 1953; WAGGONER und DIMOND, 1953). Es wurde dabei auch gezeigt, daß die Eisenkomplexe labiler sind als die Kupferkomplexe. Eine Verminderung der Giftigkeit des Eisenkomplexes konnte durch Zusatz von Kupfersalzen (antagonistische Wirkung zum Eisen), durch Zugabe von 8-Hydroxychinolin (Abfangen des Eisens in unlöslicher Form) oder durch Erhitzen (Desamidierung des Lycomarasmins und Verlust des Vermögens zur Chelatbildung) erreicht werden. Die partielle Inaktivierung des Lycomarasmins durch Strepogenin und Serylglycylglutaminsäure (WOOLLEY, 1946; GÄUMANN, NAEF-ROTH und REUSSER, 1950) ist noch recht unverständlich. — Das Eisen-Lycomarasmin scheint dadurch toxisch zu wirken, daß es in der Pflanze eine sehr hohe Eisenkonzentration bedingt. Auch der anorganische Eisenkomplex $Na_8Fe_2(P_2O_7)_3$ erwies sich als toxisch für Tomatensprosse. — Es sei darauf hingewiesen, daß *Fusarium lycopersici* Sacc. die Tomatenpflanze nicht allein mit Hilfe des Lycomarasmins schädigt (GÄUMANN, 1951; SCHEFFER, 1952).

Ein weiteres Toxin, das von diesem Pilz gebildet wird, ist die Fusarinsäure (VIII), die 5-n-Butyl-picolinsäure (GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952; 1952; YABUTA, KAMBE und HAYASHI, 1934). Diese Verbindung

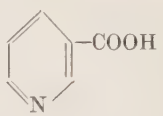
ist wohl stabiler gegenüber Säure als das Lycomarasmin. Auf Tomatensprosse



VIII

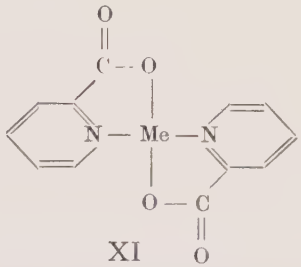


IX



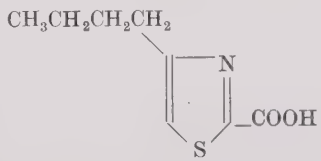
X

wirkt Picolinsäure (*α*-Pyridincarbonsäure) (IX) fast ebenso toxisch wie Fusarinsäure; Nikotinsäure (X) ist jedoch bedeutend weniger giftig. Die Picolinsäure ist relativ leicht dekarboxylierbar, und es sind von ihr verschiedene, recht stabile Metallchelate (XI) beschrieben worden (Cambi und Cagnasco, 1933; Cox, Wardlaw und Webster, 1936).



XI

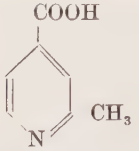
Die Fusarinsäure dürfte daher die Verteilung der Schwermetallionen in der Pflanzenzelle leicht verändern können. Dies konnte nun durch neuere gründliche Untersuchungen auch bewiesen werden (Tamari und Kaji, 1952, 1953). Reiskeimlinge werden durch Fusarinsäure stark geschädigt. Die Stabilität der Schwermetallchelate steigt in folgender Reihenfolge: $Co^{++} < Ni^{++} < Cd^{++} < Cu^{++} < Fe^{+++}$. Der Äthylester der Fusarinsäure ist zur Chelatbildung kaum mehr befähigt und besitzt daher auch nur eine geringe Toxizität. Die geschädigten Pflanzen atmen bedeutend weniger, und die Giftwirkung scheint vor allem durch Fe-Entfernung von Enzymen wie Katalase, Peroxydase und Cytochrom bedingt zu sein. Durch die Fusarinsäure werden keine aktiven SH-Gruppen blockiert. Die toxische Wirkung der Fusarinsäure kann durch Fe^{+++} oder Cu^{++} stark vermindert werden, durch Fe^{+++} mit wenig Cu^{++}, Mg^{++} und Mn^{++} kann sie praktisch aufgehoben werden. — Das Thiazol-Isostere der Fusarinsäure (XII) ist außerordentlich leicht dekarboxylierbar und schädigt die Tomate ähnlich wie Fusarinsäure selbst (Herzfeld, Prijs und Erlenmeyer, 1953).



XII

Ein Derivat der Isonikotinsäure, die 2-Methylpyridin-4-karbonsäure (XIII), ist schon vor längerer Zeit aus unfruchtbaren Böden

isoliert und als giftig für Weizenkeimlinge erkannt worden (SCHREINER und SHOREY, 1908).



XIII

Auch diese Säure vermag, z. B. mit Fe^{+++} und Cu^{++}, Metallchelate zu bilden (TAMARI und KAJI, 1953). Ihre Wirkung auf Reiskeimlinge ist ähnlich wie die der Fusarinsäure. Dieses Isonikotinsäurederivat bildet labilere Chelate als Fusarin- und Pikolinsäure, jedoch stabilere als Nikotinsäure. Die Phytotoxizität der Pyridinkarbonsäuren verläuft parallel zur Stabilität ihrer Metallchelate.

Ein drittes Welketoxin des *Fusarium lycopersici* ist das Vasinfuscarin, das wahrscheinlich ein Enzym ist und spezifisch die Leitungsbahnen der Tomatensprosse schädigt (GÄUMANN, STOLL und KERN, 1953). Sein Wirkungsmechanismus ist noch unbekannt.

Andere Welketoxine, wie die Enniatine (PLATTNER und NAGER, 1948) und das Patulin (WOODWARD und SINGH, 1949; MIESCHER, 1950), wirken wohl nach anderen Mechanismen. Immerhin wäre es möglich, daß hier nach Hydrolyse der Laktonringe Verbindungen entstehen, die Schwermetallionen koordinativ fixieren können. — Es sei bemerkt, daß die Infektion von Baumwolle durch *Fusarium vasinfectum* von einer Spurenelementdüngung stark beeinflußt wird (SULOCHANA, 1952). Von der hochtoxischen Alternariasäure sind übrigens Kupferkomplexe beschrieben worden (GROVE, 1952). Aus dem Brandpilz *Ustilago sphaerogena* konnte kürzlich ein kristallines, eisenhaltiges Pigment isoliert werden (NEILANDS, 1952).

*

Die obigen Ausführungen zeigen, daß es für die Pflanzenphysiologie und -pathologie von Wert sein dürfte, sich in Zukunft eingehender mit den Metallchelaten zu beschäftigen. Auch im Boden (SCHEFFER und SCHACHTSCHABEL, 1952; LEPPER, 1952) scheinen nieder- und hochmolekulare Chelatbildner vorhanden zu sein, obwohl sie bisher kaum in reiner Form isoliert worden sind. Für die Wanderung der Schwermetalle im Bodenprofil und die Ernährung der Pflanze spielen diese Verbindungen eine wesentliche Rolle. Man hat auch wiederholt festgestellt, daß Humusstoffe Schwermetallionen sehr stark und in einer für die Pflanze schwer aufnehmbaren Form fixieren können.

Über die Phytotoxizität von Lycomarasmin und Fusarinsäure und anderen Chelatbildnern werden demnächst GÄUMANN und NAEF-ROTH in dieser Zeitschrift berichten.

Herrn Prof. Dr. E. GÄUMANN und Frau Dr. ST. NAEF-ROTH, Institut für spezielle Botanik, Eidg. Techn. Hochschule, Zürich, möchte ich für wertvolle Anregungen bestens danken.

Zusammenfassung

Die biologische Wirkung von Chelatbildnern und Metallchelaten wird an Hand der Literatur besprochen.

Die Gegenwart bestimmter Metallchelate ist für den Ablauf der normalen Lebensprozesse einer jeden Zelle erforderlich.

Eine künstliche Zufuhr von Chelatbildnern oder Metallchelaten kann für den Organismus toxisch sein. Die Chelatbildner können durch Erzeugung eines Mangels an Metallionen und die Metallchelate durch Überschwemmung mit Metallionen den Spurenelementhaushalt in Unordnung bringen. Unter geeigneten Bedingungen wirken diese Verbindungen auch günstig für den Organismus.

Gewisse, von phytopathogenen Mikroorganismen gebildete Welketoxine wirken wohl wegen ihrer Fähigkeit, Metallchelate zu bilden, auf Pflanzen toxisch. Dies dürfte für Lycomarasmin und Fusarinsäure, die beide von dem Pilz *Fusarium lycopersici* Sacc. gebildet werden, zutreffen. Dafür sprechen, abgesehen von der Molekülstruktur dieser Verbindungen, eine Reihe physikalisch-chemischer und biologischer Arbeiten, die kurz besprochen werden.

Literaturverzeichnis

Albert, A., 1951. Selective toxicity. (London, Metuen, 228 S.)

— —, 1953. Avidity of terramycin and aureomycin for metallic cations. (Nature, **172**, 201.)

— —, Rubbo, S. D., Goldacre, R. J. and Balfour, B. G., 1947. The influence of chemical constitution on antibacterial activity. Part III: A study of 8-hydroxyquinoline (oxine) and related compounds. (Brit. Journ. Exp. Pathol., **28**, 69—87.)

Binswanger, L. A., Erlenmeyer, H., Sorkin, E. und Suter, E., 1948. Über die tuberkulostatische Wirkung des 8-Oxychinolins und des 4-Oxybenzthiazols. (Helv. Chim. Acta, **31**, 1975—1977.)

Bjerrum, J., 1950. On the tendency of the metal ions toward complex formation. (Chem. Rev., **46**, 381—401.)

Blumer, S. und Gondek, J., 1946. Über die Wirkung des Oxychinolins auf *Botrytis cinerea* Pers. (Ber. Schweiz. Bot. Ges., **56**, 467—499.)

Brown, J. C. and Hendricks, S. B., 1952. Enzymatic activities as indicators of copper and iron deficiencies in plants. (Plant Physiol., **27**, 651—660.)

Buu-Hoï et Dat Xuong, N., 1953. Sur les composés tuberculostatiques du groupe de thiourée et leur mécanisme d'action. (Compt. rend. Acad. Sc., Paris, **237**, 498—500.)

Cambi, L. and Cagnasco, A., 1934. The structure and magnetic susceptibility of complex ferrous compounds. (Gaz. chim. Ital., **63**, 767—778.)

Camp, A. F., 1953. Trace elements in crop production. (Agr. Food Chem., **1**, 294.)

Clauson-Kaas, N., Plattner, Pl. A. und Gäumann, E., 1944. Über ein welkeerzeugendes Stoffwechselprodukt von *Fusarium lycopersici* Sacc. (Ber. Schweiz. Bot. Ges., **54**, 523—528.)

Cohn, S. H., Gong, J. K. and Fishler, M. C., 1953. Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) treatment of internal radioactive contamination. (Nucleonics, **11**, 56.)

Cox, E. G., Wardlaw, W. and Webster, K. C., 1936. The stereochemistry of quadrivalent atoms: copper and silver. (Journ. Chem. Soc., London, 775—781.)

DIMOND, A. E. and WAGGONER, P. E., 1952. Biochemistry of the lycomarasmin ion chelated complex. (Phytopath., **42**, 465.)

— —, — —, 1953. The physiology of lycomarasmin production by *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*. (l. c., **43**, 195—199.)

EMÉLEUS, H. J. and ANDERSON, J. S., 1952. Modern aspects of inorganic chemistry. (London, Routledge and Kegan, 557 S.)

ERLENMEYER, H., BÄUMLER, J. und ROTH, W., 1935. Metallkomplexe und tuberkulostatische Aktivität. (Helv. Chim. Acta, **36**, 941—949.)

FALLAB, S. und ERLENMEYER, H., 1953. Zur Bestimmung der Bildungskonstanten des Komplexes aus Isonicotinsäurehydrazid und Cu^{++}. (l. c., **36**, 6—10.)

FREAR, D. E. H., 1951. Agricultural Chemistry, Vol. 2. (New York, Nostrand, 588 S.)

GÄUMANN, E., 1951. Pflanzliche Infektionslehre. 2. Auflg. (Birkhäuser, Basel, 681 S.)

— —, 1951. Neuere Erfahrungen mit Welketoxinen. (Experientia, **7**, 441—447.)

— —, 1951. Some problems of pathological wilting in plants. (Adv. Enzymology, **11**, 401—415.)

— —, KERN, H. und SAUTHOFF, W., 1952. Untersuchungen über Welketoxine. (Phytopath. Zschr., **18**, 404—415.)

— — und NAEF-ROTH, St., 1953. Über einen mutmaßlichen Desensibilisierungseffekt bei einem Welketoxin. (l. c., **20**, 133—166.)

— —, — — et KOBEL, H., 1952. L'acide fusarique, un seconde toxine de flétrissement produite par *Fusarium lycopersici* Sacc. (Compt. rend. Acad. Sc., Paris, **234**, 173—174.)

— —, — —, — —, 1952. Les synergismes chez les toxines de *Fusarium lycopersici* Sacc. (l. c., **234**, 276—278.)

— —, — —, — —, 1952. Über Fusarinsäure, ein zweites Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. (Phytopath. Zschr., **20**, 1—38.)

— —, — — und MIESCHER, G., 1950. Untersuchungen über das Lycomarasmin. (Phytopath. Zschr., **16**, 257—288.)

— —, — — und REUSSER, P., 1950. Über die Inaktivierung von Lycomarasmin durch Strepogenin. (l. c., **17**, 229—232.)

— —, — —, — — und AMMANN, A., 1952. Über den Einfluß einiger Welketoxine und Antibiotica auf die osmotischen Eigenschaften pflanzlicher Zellen. (l. c., **19**, 160—220.)

— —, STOLL, CH. und KERN, H., 1953. Über Vasinfuscarin, ein drittes Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. (l. c., **20**, 245—247.)

GAUSMANN, H. W., RHYKERD, C. L., HINDERLITER, H. R., SCOTT, E. S. and AUDRIETH, L. F., 1953. Fungicidal properties of some carbonic and thiocarbonic acid derivates of hydrazine. (Bot. Gaz., **114**, 292—296.)

GREEN, D. E., 1941. Enzymes and trace elements. (Adv. Enzymology, **1**, 177—198.)

GROVE, J. F., 1952. Alternaric acid. Part I. Purification and characterization. (Journ. Chem. Soc. London, 4056—4059.)

HAHN, H., BÄUMLER, J., ROTH, W. und ERLENMEYER, H., 1953. Über Kupferkomplexe von Säureamiden und anderen Verbindungen. (Helv. Chim. Acta, **36**, 10—13.)

HECK, W. W. and BAILEY, L. F., 1950. Chelation of trace metals in nutrient solutions. (Plant Physiol., **25**, 573—582.)

HEIN, F., 1950. Chemische Koordinationslehre. (Hirzel, Zürich, 683 S.)

HERZFELD, L., PRIJS, B. und ERLENMEYER, H., 1953. Über das Thiazol-Isostere der Fusarinsäure. (Helv. Chim. Acta, **36**, 1842—1845.)

JACOBSON, L., 1951. Maintenance of iron supply in nutrient solutions by a single addition of ferric-potassium ethylenediamine tetraacetate. (Plant Physiol. **26**, 411—413.)

JAMES, W. O., 1953. The use of respiratory inhibitors. (Ann. Rev. Plant Physiol., **4**, 59—90.)

Lepper, G. W., 1952. Factors affecting availability of inorganic nutrients in soils with special reference to micro-nutrient metals. (l. c., **3**, 1—16.)

Martell, A. E. and Calvin, M., 1952. Chemistry of the metal chelate compounds. (Prentice-Hall, New York, 570 S.)

Mellor, D. P. and Maley, L., 1947. Stability constants of internal complexes. (Nature, **159**, 370.)

— —, — —, 1948. Order of stability of metal complexes. (l. c., **161**, 436—437.)

Miescher, G., 1950. Über die Wirkungsweise von Patulin auf höhere Pflanzen, insbesondere auf *Solanum Lycopersicum* L. (Phytopath. Zschr., **16**, 369—397.)

Morgan, G. and Drew, H., 1920. Researches on residual affinity and coordination. (Journ. Chem. Soc., London, 1456.)

Müslin, L., Roth, W. und Erlenmeyer, H., 1953. Über die tuberkulostatische Aktivität einiger Schiffscher Basen. (Helv. Chim. Acta., **36**, 886—890.)

Neilands, J. B., 1952. A crystalline organo-iron pigment from a rust fungus (*Ustilago sphaerogena*). (Journ. Amer. Chem. Soc., **74**, 4846—4847.)

Newton, B. A., 1953. Reversal of the antibacterial activity of polymyxin by divalent cations. (Nature, **172**, 160—161.)

Plattner, Pl. A. und Clauson-Kaas, N., 1945. Über Lycomarasmin, den Welkestoff aus *Fusarium lycopersici* Sacc. (Experientia, **1**, 195—196.)

— — und Nager, U., 1948. Über die Konstitution von Enniatin B. (Helv. Chim. Acta, **31**, 665—671.)

— —, — — und Boller, 1948. Welkestoffe und Antibiotika. VII. Über die Isolierung neuartiger Antibiotika aus Fusarien. (l. c., **31**, 594—602.)

Popovici, A., Geschickter, C. F., Reinovsky, A. and Rubin, M., 1950. Experimental control of serum calcium levels in vivo. (Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **74**, 415.)

Roth, W., Carrara, G. und Erlenmeyer, H., 1953. Über die tuberkulostatischen Eigenschaften des Thiophen-2-carbonsäurehydrazids. (Helv. Chim. Acta, **36**, 1004—1007.)

— —, Zuber, F., Sorkin, E. und Erlenmeyer, H., 1951. Über die Eigenschaften einiger Metallkomplexe der p-Aminosalicylsäure. (l. c., **34**, 430—433.)

Rubbo, S. D., Albert, A. and Gibson, M. I., 1950. The influence of chemical constituents on antibacterial activity. V. The antibacterial action of 8-hydroxyquinoline (oxine). (Brit. Journ. Exp. Path., **31**, 425.)

Saz, A. K. and Slie, R. B., 1953. Manganese reversal of aureomycin inhibition of bacterial cell-free nitro-reductase. (Journ. Amer. Chem. Soc., **75**, 4626.)

Sorkin, E., Roth, W. und Erlenmeyer, H., 1952. Über die Beeinflussung tuberkulostatischer Wirkungen durch Cu^{++}. (Helv. Chim. Acta, **35**, 1736—1741.)

Sulochana, C. B., 1952. Soil conditions and root diseases. VII. Response of cotton plants to micro-element amendment and its relation to disease development. (Proc. Indian Acad. Sci., **47**, 234.)

Scheffer, F. und Schachtschabel, P., 1952. Bodenkunde. (Enke, Stuttgart, 239 S.)

Scheffer, R. P., 1952. The wilting mechanism in Fusarium wilt of tomato. (Phytopath., **42**, 18.)

Schreiner, O. and Shorey, E. C., 1908. The isolation of picoline carboxylic acid from soils and its relation to soil fertility. (Journ. Amer. Chem. Soc., **30**, 1295—1307.)

Schwarzenbach, G., 1952. Der Chelateffect. (Helv. Chim. Acta, **35**, 2344—2359.)

— — und Ackermann, H., 1947. Komplexone V. Die Äthylendiamintetraessigsäure. (l. c., **30**, 1798—1804.)

Stewart, J. and Leonard, C. D., 1952. Chelates as sources of iron for plants growing in the field. (Science **116**, 564—566.)

Stiles, W., 1946. Trace elements in plants and animals. (Univ. Press, Cambridge, 189 S.)

Tamari, K. and Kaji, J., 1953. Studies on the mechanism of injurious action of 2-methyl-pyridin-4-carboxylic acid on plant growth. Parts 1—3. (Journ. Agr. Chem. Soc. Japan, **27**, 144—147, 147—150, 159—161.)

— —, — —, 1952, 1953. Studies on the mechanism of injurious action of fusarinic acid on plant growth. Parts 1—8. (l. c., **26**, 223—227, 295—298, 298—303, 345—349, 349 bis 353; **27**, 245—249, 249—252, 302—306.)

Waggoner, P. E. and Dimond, A. E., 1953. Role of chelation in causing and inhibiting the toxicity of Lycomarasmin. (Phytopath., **43**, 281—284.)

Wallace, T., 1951. The diagnosis of mineral deficiencies in plants by visual symptoms. (H. M. Stat. Office, London, 107 S.)

Warburg, O., 1948. Schwermetalle als Wirkungsgruppen von Fermenten. (Sänger, Berlin, 195 S.)

Werner, A., 1905. Neuere Anschauungen auf dem Gebiete der anorganischen Chemie. (Vieweg, Braunschweig, 189 S.)

Woodward, R. B. and Singh, G., 1949. The structure of Patulin. (Journ. Amer. Chem. Soc., **71**, 758—759.)

Woolley, D. W., 1946. Some correlations of growth-promoting powers of proteins with their strepogenin content. (Journ. Biol. Chem., **162**, 383—388.)

— —, 1948. Strepogenin activity of derivates of glutamic acid. (l. c., **172**, 71—81.)

— —, 1952. A study of antimetabolites. (Wiley, New York, 296 S.)

Yabuta, T., Kambe, K. and Hayashi, T., 1934. Biochemistry of the bakanae fungus. I. Fusaric acid, a new product of the bakanae fungus. (Journ. Agr. Chem. Soc. Japan, **10**, 1059—1068; ref. in Chem. Abstr. **29**, 1132, 1935.)

Zentmyer, G. A., 1944. Inhibition of metal catalysis as a fungistatic mechanism. (Science, **100**, 294—295.)

— — and Horsfall, J. G., 1943. Internal therapy with organic chemicals in treatment of vascular diseases. (Phytopath., **33**, 16—17.)

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich

Über die chelierende Wirkung einiger Welketoxine I[1])

Von

E. Gäumann und St. Naef-Roth

Mit 5 Tabellen und 6 Abbildungen im Text

Inhalt: Einleitung. — § 1. Der Welke-Effekt chelatbildender Modellsubstanzen. — § 2. Der Einfluß von Tomatensproß-Asche auf den Chelierungseffekt der Modellsubstanz Komplexon III. — § 3. Besprechung der Ergebnisse. — Zusammenfassung.

Einleitung

Durch Deuel (1954) wurde im selben Heft dieser Zeitschrift auf Grund strukturchemischer Erwägungen wahrscheinlich gemacht, daß die beiden Welketoxine Lycomarasmin und Fusarinsäure, die vom *Fusarium lycopersici* Sacc. gebildet werden, neben ihren sonstigen Schädigungsmöglichkeiten auch als Komplexbildner wirken und einen Teil der für den Enzym-Stoffwechsel des Wirtes wichtigen Metallkationen abbinden, so daß sie den Wirtspflanzen nicht mehr zur Verfügung stehen. Die Möglichkeit eines wirksamen Chelierungseffektes[2]) war ja durch Waggoner und Dimond (1953) für das Lycomarasmin angezweifelt worden.

Die Prüfung der Deuelschen Arbeitshypothese wurde längs drei Wegen versucht:

a) Wir ließen die Tomatensprosse unter konstanten sonstigen Bedingungen steigende Mengen einer komplexbildenden Modellsubstanz aufnehmen und verfolgten den Schädigungseffekt.

b) Wenn dieser Schädigungseffekt wirklich auf einer Chelatbildung beruht, die zu einer Blockierung wichtiger Spurenelemente im Innern der Wirts-

[1]) Die vorliegende Arbeit wurde durch den schweizerischen Nationalfonds zur Förderung wissenschaftlicher Forschung unterstützt; wir möchten seinen Behörden auch hier unsern Dank wiederholen.

[2]) Mit dem nicht ganz üblichen Wort „Chelierung" (statt „Chelatbildung") wird in der vorliegenden Arbeit die Fähigkeit einer Verbindung, Metallchelate zu bilden, bezeichnet.

zellen führt, so muß zweierlei geschehen. 1. muß der Schädigungseffekt sukzessive abnehmen, wenn der chelatbildenden Modellsubstanz oder den in Frage stehenden Welketoxinen steigende Mengen von Asche der betreffenden Pflanzen zugesetzt werden; denn durch die Zugabe der in der Asche enthaltenen Metallkationen wird ja das Chelierungsvermögen dieser Substanzen in steigendem Maße abgesättigt. Und 2. muß der schädigende Effekt, wenn das Optimum der Aschenzugabe überschritten wird, bei einer noch weiteren Steigerung der Aschengaben wieder zunehmen, weil dann die Gewebe der Versuchssprosse durch übergroße Mengen der betreffenden Metallkationen überschwemmt werden.

c) Falls der schädigende Effekt der Chelatbildner auf einer Blockierung z. B. der Eisenionen im Innern der Wirtszellen beruht, so muß die Schädigung wiederum eine Optimumkurve durchlaufen, wenn dem Chelatbildner statt steigender Mengen Asche steigende Mengen einer Eisenverbindung zugesetzt werden.

Die vorliegende erste Mitteilung bespricht in § 1 die Welkewirkungen, die eine chelierende Modellsubstanz in steigenden Dosen bei jungen Tomatensprossen auslöst. § 2 berichtet über den Einfluß steigender Zusätze von Tomatensproß-Asche auf den Welke-Effekt dieser Modellsubstanz. Spätere Mitteilungen werden sich u. a. mit der Wirkung von Tomatensproß-Asche und von einzelnen Metallionen auf die in Frage stehenden Welketoxine selbst befassen.

§ 1. Der Welke-Effekt chelatbildender Modellsubstanzen

Damit eine chelatbildende Verbindung sich als Modellsubstanz für Welkeversuche eignet, muß sie bei jungen Tomatensprossen ähnliche Schädigungen auslösen wie die in Frage stehenden Welketoxine. Nur dann ist mit einiger Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß sie den Wirt an derselben Stelle und in ähnlicher Weise angreift wie die in Frage stehenden parasitogenen Toxine, und nur dann sind Analogieschlüsse von einer Substanz zur andern tragfähig.

8-Oxychinolin (Oxin) wird z. B. in der Mikrobiologie häufig zu Chelierungszwecken verwendet; aber in der vorliegenden Arbeit ist es als Vergleichsobjekt weniger geeignet, weil es wasserunlösliche Metallchelate bildet und überdies an jungen Tomatensprossen völlig andere Schädigungsbilder verursacht als Lycomarasmin und Fusarinsäure. Es schädigt nämlich bei einer Dosis von 700 mg je kg Lebendgewicht bei Tomatensprossen vorwiegend die Stengel, die fadendünn werden, und läßt die Blätter zur Hauptsache unberührt. Lycomarasmin verursacht dagegen an den Stengeln überhaupt keine Symptome und schädigt nur die Blätter, und Fusarinsäure kann zwar Stengelschäden erzeugen, löst aber die führenden Symptome bei den Blättern aus. Oxychinolin besitzt somit ganz andere spezifische Wirkungsorte als Lycoma-

rasmin und Fusarinsäure; Rückschlüsse von Oxychinolin auf Lycomarasmin können deshalb leicht zu Mißverständnissen führen. Dazu kommt, daß Stengelsymptome rein versuchstechnisch ungünstig sind, weil sie stark streuen und sich schwer bonitieren lassen.

Dasselbe ist mit Na-diaethyldithiocarbamat der Fall, das bei einer Dosis von 1000 mg je kg Lebendgewicht die Fiederblättchen der Tomatensprosse am Blattgrund, längs der Rippen, ausbleicht, dagegen die Blattspitzen und Blattränder intakt läßt. Wieder sind Wirkungsort und Wirkungsweise spezifisch anders beschaffen als bei Lycomarasmin und Fusarinsäure, so daß die Verbindung trotz ihrer sonstigen Qualitäten als Vergleichssubstanz für Lycomarasmin und Fusarinsäure ausscheidet.

Am besten bewährten sich als Modellsubstanzen im Sinne unserer Kriterien zwei Komplexone von SCHWARZENBACH (1952), nämlich das

K o m p l e x o n I: Nitrilotriessigsäure mit einem Molekulargewicht von 191,1, mit 0,2 Mol NaOH in Lösung gebracht; und

K o m p l e x o n III: Dinatriumsalz der Aethylendiamintetraessigsäure mit einem Molekulargewicht von 372,1 (SCHWARZENBACH und ACKERMANN, 1947).

Mit der Welkewirkung dieser beiden Komplexone beschäftigt sich zunächst die

1. V e r s u c h s r e i h e

V e r s u c h s f r a g e: Welche Wirkung haben die Komplexone I und III, wenn sie in gleicher Weise wie Welketoxine in junge Tomatensprosse eingeführt werden?

Für jede Stufe wurden, wie üblich, 15 Tomatensprosse verwendet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1

D e r W e l k e - E f f e k t z w e i e r k o m p l e x b i l d e n d e r M o d e l l s u b s t a n z e n

Substanz	Konzentration molar	Dosis mg je kg Lebendgewicht	Welke-Index	
			Stengel	Blätter
Komplexon I	$2 \cdot 10^{-2}$	478	0	0,3
		955	0	1,7
		1910	0	2,3
Komplexon III	10^{-2}	465	0	0,8
		930	0	1,6
		1860	0	2,4

Bei geringen Komplexon-Dosen wird die Wirkung zuerst in kleinen Nekrosen an den Spitzen oder den Rändern der Fiederblätter und in den Interkostalfeldern sichtbar (Stufe 1). Bei höheren Dosen werden die Rand-

schäden und die Interkostalfelder-Nekrosen ausgeprägter (Abb. 1), etwas dunkler gefärbt und scharfrandig-zackig gegen die gesunden Gewebe abgesetzt (Stufe 2 und 3); die Blätter zeigen eine Tendenz, sich nach unten einzurollen (Abb. 2). Die höchste Blattschädigung (Stufe 4) bezeichnet total nekrotische leicht dunkel gefärbte Blattspreiten, nach unten eingerollt und ausgesteift (nie schlaff).

Komplexon I verursacht auch bei hohen Dosen keine Schädigungen an den Stengeln der Tomatensprosse.

Komplexon III bewirkt dagegen, wie andere Versuche zeigten, bei hohen Dosen Stengelschädigungen nach Art der Fusarinsäure. Die Wirkung beginnt am untersten Stengelende manifest zu werden; es kollabiert unter Bildung von eingesunkenen Rillen (Stufe 1) und wird unter Umständen fadendünn (Abb. 2). Bei hohen Dosen und langen Aufnahmezeiten setzen sich die Rillen bis zum obersten Blatt fort (Stufe 2 bis 4); der Stengel kollabiert schließlich in der ganzen Länge. Die Stengelwirkung beginnt somit nie am oberen Ende; die Blattstiele werden nicht geschädigt.

Abb. 1. Die Schadwirkung von Komplexon III bei jungen Tomatensprossen (Intensitätsstufe 2). Sämtliche Blattspitzen zeigen größere oder kleinere Schädigungen, am stärksten die terminale Spitze und die drittoberste Spitze rechts; diese Spitzennekrosen erinnern an die durch Lycomarasmin ausgelösten Schädigungen. In den Interkostalfeldern sind (vor allem in der linken Blatthälfte) einige zackige, scharf umrandete, helle Nekrosen aufgetreten.
1½fach nat. Gr. Aufnahme Phot. Inst. E. T. H.

Für unsere weiteren Untersuchungen beschränkten wir uns auf das Komplexon III, da es bei hohen Gaben auch den Stengel schädigt (also hierin an die Fusarinsäure erinnert), und weil seine Strukturformel möglicherweise eine Ähnlichkeit mit derjenigen des Lycomarasmins aufweist. Ferner bildet es, im Gegensatz zum Oxychinolin, wasserlösliche Metallkomplexe, also ähnliche Metallkomplexe wie das Lycomarasmin.

Zunächst waren einige Fragen der Arbeitsmethode zu klären, nämlich: In welcher Weise verändert sich die schädigende Wirkung von Komplexon III,

a) wenn bei gleichbleibender Konzentration die Menge des zugeführten Komplexons wächst?

b) wenn bei gleichbleibender Dosis die Konzentration der zugeführten Komplexonlösung steigt? Und

c) wenn ceteris paribus das pH der zugeführten Komplexonlösung verändert wird?

Abb. 2. Die Schadwirkung von Komplexon III bei jungen Tomatensprossen (Intensitätsstufe 3). Sämtliche Fiederblättchen zeigen starke Spitzennekrosen, die sich (vor allem bei den letzten Fiederblättchen rechts und links außen) schon über die halbe Spreite hin erstrecken. Die Fiederblättchen des dritten Blattes sind stark, diejenigen des zweiten Blattes schwächer eingerollt. Der Stengel ist an der Basis fadenartig kollabiert. 1½fach nat. Gr. Aufnahme Phot. Inst. E. T. H.

2. Versuchsreihe

Versuchsfrage: Wie ändert sich die Schadwirkung von Komplexon III bei jungen Tomatensprossen, wenn a) bei gleichbleibender Konzentration die Menge des zugeführten Komplexons, b) bei gleicher Menge die Konzentration der verabreichten Lösung, und c) ceteris paribus das pH der zugeführten Lösung verändert wird?

Die Ergebnisse des gesamten Prüfungsfeldes, das viele Hundert Tomatensprosse (je Stufe 20 Stück) umfaßte, sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Sie zeigen folgendes:

Tabelle 2

Die Schadwirkung von Komplexon III auf junge Tomatensprosse
Erklärung im Text

pH	Konzentration molar	Verabreichte Dosis in mg je kg Lebendgewicht																	
		233			465			930			1860			3720			7440		
		Stengel	Blatter	Minuten	Stengel	Blatter	Minuten	Stengel	Blatter	Minuten	Stengel	Blatter	Minuten	Stengel	Blatter	Minuten	Stengel	Blatter	Minuten
4,0	5 · 10—3	0	0,59	79	0	0,91	150	0	1,56	321									
	10—2				0	0,76	85	0,01	1,59	193	1,24	2,69	440						
	2 · 10—2							0,01	1,54	107	0,48	2,61	246	2,96	3,28	751			
	4 · 10—2										0,19	2,30	146	2,12	3,35	451	3,92	3,96	893
5,0	5 · 10—3	0	0,18	75	0	0,48	138	0	0,67	288									
	10—2				0	0,40	57	0	0,99	150	0,68	2,26	426						
	2 · 10—2							0	0,84	34	0,40	2,31	277	2,55	3,24	720			
	4 · 10—2										0,40	2,95	136	2,55	3,78	459	3,84	3,94	872
6,0	5 · 10—3	0	0,21	81	0,05	0,33	160	0,63	0,81	287									
	10—2					0,41	103	0,32	1,04	172	1,70	2,36	395						
	2 · 10—2							0,01	1,19	88	0,98	2,04	241	1,98	3,09	648			
	4 · 10—2										0,48	2,01	185	1,68	3,35	448	3,52	3,66	865

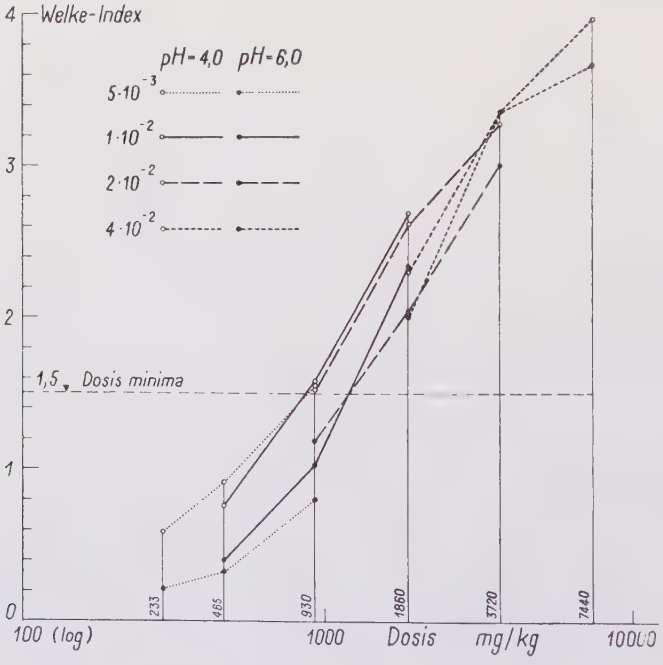


Abb. 3. Der Welke-Effekt von Komplexon III an Tomatenblättern bei steigenden Gaben, die überdies in wachsender Konzentration und in zwei verschiedenen pH-Stufen verabreicht werden. Abszisse: Verabreichte Dosis in mg je kg Lebendgewicht, logarithmisch dargestellt. Ordinate: Welke-Index; die bei der Ordinate 1,5 durchgezogene Niveaulinie gibt die Lage der dosis minima an

a) Wie verändert sich die Schadwirkung von Komplexon III, wenn es in steigenden Mengen zugeführt wird? Antwort: Dann verändert sich seine Schadwirkung sowohl quantitativ als qualitativ.

Die quantitative Steigerung des Schadeffektes ist in Abb. 3 für die Blätter der Tomatensprosse veranschaulicht; die Wirkungskurve verläuft bei semilogarithmischer Darstellung mit steigenden Gaben ziemlich linear. Die dosis minima liegt für pH 4,0 (entsprechend der unveränderten Komplexonlösung) bei etwa 850 mg je kg Lebendgewicht; sie kommt also unter den von uns geprüften Antibiotica (Gäumann-Naef-Roth, Reusser und Ammann, 1952, S. 187) dem Wirkungsgrad des Streptomycins am nächsten (dosis minima für Tomatensprosse bei Streptomycin 680 mg je kg Lebendgewicht).

Diese 850 mg je kg Lebendgewicht sind 6- bis 20mal größer als die dosis minima der echten, von uns untersuchten Welketoxine. Dies mag damit zusammenhängen, daß die Komplexone nur einen Effekt der Welketoxine wiederholen, nämlich den Chelierungseffekt, während die Welketoxine überdies noch eine Reihe anderer Effekte, so Störungen in der Semipermeabilität der Plasmagrenzschichten auslösen.

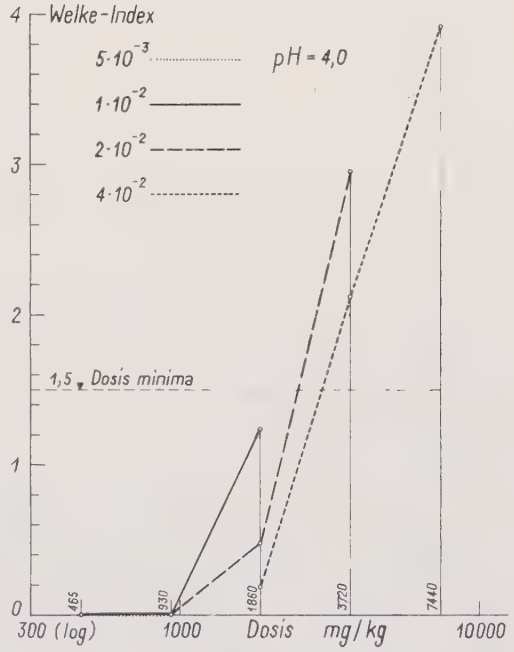


Abb. 4. Der Welke-Effekt von Komplexon III an Tomatenstengeln bei steigenden Gaben, die überdies in wachsender Konzentration verabreicht wurden. Abszisse: Verabreichte Dosis in mg je kg Lebendgewicht. Ordinate: Welke-Index

Die qualitative Verschiebung des Schadeffektes äußert sich darin, daß niedere Komplexongaben nur an den Blättern, dagegen nicht an den Stengeln Symptome auslösen, während höhere Gaben in steigendem Maße auch die Stengel schädigen. Schon im Bereich der Komplexon-III-Gabe von 930 mg je kg Lebendgewicht beginnt das untere Ende einiger Stengel sich zu verfärben und nach Art der Abb. 2 zu kollabieren. Bei der doppelten Gabe (1860 mg je kg Lebendgewicht) prägen sich diese Schädigungen und insbesondere die Rillenbildungen schon stärker aus, und bei der höchsten Gabe (7440 mg je kg Lebendgewicht) führen sie zu einer völligen Vernichtung der Stengel.

b) Wie verändert sich die Schadwirkung des Komplexons III bei jungen Tomatensprossen, wenn bei gleichbleibender Dosis die Konzentration der zugeführten Komplexonlösung verändert wird?

Bei der Einwirkung des Komplexons III auf die Stengel der Tomatensprosse scheint die schädigende Wirkung mit wachsender Konzentration schwach abzunehmen. Doch sind Stengeleffekte immer schwer zu bonitieren; auch kann es leicht geschehen, daß durch frühzeitige Schädigungen der Stengelgewebe die weitere Toxinaufnahme gestört wird, wodurch unklare Verhältnisse entstehen. Immerhin scheint es nach Abb. 4 bei der Konzentration von $5 \cdot 10^{-3}$ molar rund 2140 mg Komplexon III je kg Lebendgewicht zu brauchen, um bei den Stengeln eine durchschnittliche Schädigung von der Stärke 1,5 hervorzurufen, bei der rund zehnmal stärkeren Konzentration von $4 \cdot 10^{-2}$ molar dagegen rund 2930 mg je kg Lebendgewicht, also deutlich mehr. Doch möchten wir diesen Befund angesichts der starken Streuung der Stengeleffekte vorläufig als ungesichert betrachten.

Für den Blatteffekt, der ja ungleich genauer und zuverlässiger zu bewerten ist als der Stengeleffekt, besteht dagegen beim Komplexon III innerhalb des geprüften Bereiches keine Beziehung zwischen Konzentration und Schadwirkung; denn in Abb. 3 schließen die bei vier verschiedenen Konzentrationen gewonnenen Kurvenstücke ungezwungen aneinander, obschon die für die Aufnahme einer bestimmten Komplexonmenge benötigte Zeit (in Tabelle 2 in der Spalte „Minuten" aufgeführt) mit steigender Verdünnung der Komplexonlösung auf das Mehrfache ansteigt. Es ist deshalb, soweit Blattsymptome in Frage kommen, im Rahmen der Konzentrationen von $5 \cdot 10^{-3}$ und $4 \cdot 10^{-2}$ molar versuchstechnisch gleichgültig, mit welcher Konzentration der Komplexon-III-Lösungen man arbeitet.

c) Inwiefern wird der schädigende Effekt des Komplexons III durch das pH der zugeführten Komplexonlösung verschoben?

Trägt man aus Tabelle 2 die Schadeffekte für die Stengel der Tomatensprosse semilogarithmisch ab, so fügen sich die Kurvenstücke ungezwungen in das breite Streuunsgfeld der Abb. 4 ein. Es besteht somit beim Stengeleffekt keine zuverlässige Beziehung zwischen der Schadwirkung und dem pH der zugeführten Komplexon-III-Lösung.

Bei den Blättern scheint dagegen die Giftigkeit des Komplexons III durch die Beifügung von Natronlauge um einen geringen Betrag verringert zu werden. In Abb. 3 braucht es bei pH 4,0 (also bei unveränderter Komplexon-III-Lösung) rund 850 mg Komplexon III je kg Lebendgewicht, um eine Schadwirkung von der Stärke 1,5 hervorzurufen, bei pH 6,0 (und, wie aus Tabelle 2 ersichtlich, auch bei pH 5,0) dagegen rund 1130 mg. Für diese pH-gebundene Verschiebung der Schadwirkung des Komplexons III sind mehrere Erklärungen möglich; wir möchten ihnen im Rahmen der vorliegen-

den Arbeit nicht weiter nachgehen. Wesentlich ist für uns vorläufig nur zu wissen, daß bei den Versuchen mit Komplexon III (und insbesondere bei den nunmehr zu besprechenden Versuchen mit steigenden Zusätzen von Tomatensproß-Asche) die Konzentration der Komplexonlösung in dem von uns verwendeten Bereich keine Rolle spielt, wogegen das pH der Toxinlösung stets konstant gehalten werden muß.

§ 2. Der Einfluß von Tomatensproß-Asche auf den Chelierungseffekt der Modellsubstanz Komplexon III

Falls das Komplexon III wirklich wegen seines Chelierungsvermögens die Tomatensprosse zum Welken bringt, so muß seine welkeauslösende Wirkung abnehmen, wenn ihm steigende Mengen von Tomatensproß-Asche zugesetzt werden; denn durch diese Aschenzusätze wird sein Chelierungsvermögen in steigendem Maße abgesättigt.

821 junge Tomatensprosse in der Art, wie wir sie für unsere Testierungsversuche verwenden, mit einem Frischgewicht von rund 2 kg und einem Trockengewicht von rund 180 g, wurden getrocknet, in der Schlagmühle gemahlen, in Quarzschalen verascht, in der Platinschale mit Flußsäure behandelt, unter Zugabe von wenig Schwefelsäure feucht zermörsert und geglüht; die Asche enthält somit keine Flußsäure und keine Schwefelsäure mehr.

Die resultierenden 45 g Asche entsprechen einer Aschenmenge von 55 mg je Tomatensproß. Da die jungen Sprosse durchschnittlich 2,4 g wogen, so entsprechen die 55 mg Asche einem Aschengehalt von 22,9 g je kg Lebendgewicht.

Die Rohasche ist nicht vollständig wasserlöslich; unsere Tabellen führen deshalb als Aschenzusatz nicht die eingewogene Aschenmenge auf, sondern den gelösten Anteil, also die Differenz zwischen eingewogener und zurückgewogener Substanz.

Ehe wir die Wirkung der Tomatensproß-Asche auf das Chelierungsvermögen der zu prüfenden Welkesubstanzen besprechen, haben wir die Vorfrage zu klären: Wie wirkt Tomatensproß-Asche für sich allein in steigenden Mengen auf junge Tomatensprosse? Dies geschieht in der dritten Versuchsreihe.

3. Versuchsreihe

Versuchsfrage: Welche Symptome löst Tomatensproß-Asche bei jungen Tomatensprossen aus, wenn sie in steigenden Mengen zugeführt wird?

Sämtliche Lösungen von Tomatensproß-Asche wurden mit Natronlauge auf pH 4,0 eingestellt. Die in einer bestimmten Versuchsreihe beobachteten Schädigungen sind in Tabelle 3 aufgeführt; einige andere Serien ergaben ähnliche Werte.

Tabelle 3

Der schädigende Effekt von Tomatensproß-Asche auf junge Tomatensprosse

Verabreichte Aschenmenge mg je kg Lebendgewicht	Welke-Index	
	Stengel	Blätter
780	0	0
1360	0	0,13
1730	0	0,20
2100	0	0,39
2450	0	0,61
3750	3	1,65
17500	4	2,95

Abb. 5. Die Schadwirkung von Komplexon III + Tomatensproß-Asche auf junge Tomatensprosse. Der abgebildete Sproß erhielt je kg Lebendgewicht 1860 mg Komplexon III + 2700 mg Tomatensproß-Asche verabreicht. Der Stengel ist in kurzen Intervallen eingefallen, als ob er zwischen den Fingern zusammengedrückt worden wäre. Der Stiel des dritten Blattes ist an der Ansatzstelle und etwas weiter außen, derjenige des zweiten Blattes an der Ansatzstelle zusammengefallen und geknickt. Die Fiederblättchen zeigen starke Spitzenschädigungen, die beim terminalen Fiederblatt des jüngsten Blattes bis in die Mitte der Spreite herabreichen. 1½fach nat. Gr. Aufnahme Phot. Inst. E. T. H.

Bis zu der Aschengabe von 1360 mg je kg Lebendgewicht sind an den Tomatensprossen keine Schädigungen zu erkennen. Bei dieser Dosis treten erstmals Symptome auf. Sie bestehen in leichten Schädigungen an den Spitzen

und Rändern der Fiederblättchen. Bei der höchsten Dosis (2450 mg je kg Lebendgewicht) zeigen sich starke Blattrandnekrosen und gelegentlich leichte Nekrosen in den Interkostalfeldern, wobei aber die durchschnittliche gesamte Schädigung nicht über den Index 0,6 hinaufragt; der Stengel beginnt von unten her unter leichter Rillenbildung zu kollabieren.

Wesentlich ist somit im Rahmen der vorliegenden Untersuchung, daß Tomatensproß-Asche in Gaben bis rund 1400 mg je kg Lebendgewicht bei jungen Tomatensprossen keine manifesten Schädigungen verursacht und erst in der doppelten Gabe (rund 2500 mg je kg Lebendgewicht) deutliche Nekrosen an den Fiederblättchen auslöst.

Nach der Abklärung dieser Voraussetzungen besprechen wir den ersten Komplexon-III-Aschen-Versuch.

4. Versuchsreihe

Versuchsfrage: Wie ändert sich der welkeauslösende Effekt von Komplexon III bei jungen Tomatensprossen, wenn der Komplexonlösung steigende Mengen von Tomatensproß-Asche zugesetzt werden?

Als Grundgabe erhielten die Tomatensprosse eine Komplexonlösung in der Konzentration von $2 \cdot 10^{-2}$ molar zugeführt, und zwar 1860 mg Komplexon III je kg Lebendgewicht. Diese Dosis löst an den Stengeln keine oder nur sehr schwache, an den Blättern dagegen deutliche Schädigungen aus. Der Komplexon-Grundlösung wurden 14 Stunden vor Versuchsbeginn steigende Mengen Tomatensproß-Asche zugesetzt; der nicht gelöste Rückstand wurde bei Versuchsbeginn wieder zurückgewogen und das pH auf 4,0 eingestellt.

Tabelle 4

Die Wirkung von Tomatensproß-Asche auf den Welke-Effekt von Komplexon III bei jungen Tomatensprossen.

Sämtliche Sprosse erhielten als Grunddosis 1860 mg Komplexon III je kg Lebendgewicht; dieser Komplexonlösung wurden, je nach Stufe, steigende Mengen Tomatensproß-Asche beigefügt. Die für die Blatteffekte eingesetzten Streuungen wurden nach Linder (1951) berechnet

Aschenzusatz mg je kg Lebendgewicht	Welke-Index	
	Stengel	Blätter
0	0,13	2,67 ± 0,40
245	0,0	2,45 ± 0,49
445	0,1	2,30 ± 0,51
960	0,55	1,59 ± 0,67
1440	0,85	1,40 ± 0,38
1910	0,03	0,94 ± 0,42
2400	0,1	1,51 ± 0,65
2700	0,85	1,83 ± 0,58

Die Kontrollen (nur 1860 mg Komplexon III ohne Asche) zeigten eine sehr schwache und unregelmäßige Stengelwirkung, dagegen eine Blattwirkung von durchschnittlich 2,67 (Tabelle 4).

Bei steigenden Aschengaben bewegte sich der Stengeleffekt sprunghaft zwischen den Grenzen 0 und 0,85; so zeigten vier von 15 Sprossen bei der Aschengabe von 1440 mg an ihren Stengeln starke Nekrosen in der Größenordnung von 2 bis 3 und verschoben dadurch das Mittel stark nach oben. Es ist leider eine Erfahrung, die sich bei Toxinversuchen immer wieder bestätigt, daß Stengeleffekte launisch und unberechenbarer als Blatteffekte auftreten, so daß man sie oft am liebsten beiseite lassen würde.

Oberhalb der Aschengabe von 1910 mg je kg Lebendgewicht ändern sich die Schädigungssymptome auch qualitativ. Die Stengel und Blattstiele weisen Knickstellen auf, die bei der Vergiftung mit reinem Komplexon III nie auftraten (Abb. 5).

Für das uns hier interessierende Problem der Abstumpfung des Chelierungseffektes von Komplexon III mittels Tomatensproß-Asche ist somit aus den Stengelsymptomen der Tabelle 4 nicht viel herauszuholen.

Sehr schön sind dagegen die mit den Blättern gewonnenen Ergebnisse. Mit steigenden Aschenzusätzen sinkt bei ihnen der Welkeeffekt von 2,67 bei den Kontrollen stetig ab bis auf den Betrag von 0,94 beim Aschenzusatz von 1910 mg je kg Lebendgewicht. Dabei sind die Differenzen statistisch gesichert (berechnet nach LINDER, 1951); so beträgt im Intervall von 1,40 ± 0,38 zu 0,94 ± 0,42 der t-Wert 3,563, bei einem $t_{P=0,01}$-Wert von 2,845.

Beim Aschenzusatz von 1910 mg je kg Lebendgewicht durchläuft die Schädigungskurve ein Minimum (Abb. 6, Kurve a). Da der durchschnittliche natürliche Aschengehalt der Tomatensprosse 22,9 g je kg Lebendgewicht beträgt, so entsprechen diese 1910 mg einem Aschenzusatz von 8,3 %, also von rund 10% des natürlichen Aschengehaltes.

Anderseits ist bemerkenswert, daß die Tomatensprosse bei dieser Aschengabe ungefähr gleich viel Asche wie Komplexon III zugeführt erhielten, nämlich 1910 mg Asche und 1860 mg Komplexon III je kg Lebendgewicht. Würden die beiden Substanzen unabhängig voneinander auf die Tomatensprosse einwirken, so müßten sich ihre Schädigungseffekte irgendwie, mehr oder weniger, summieren; statt dessen inaktivieren sich die beiden Partner; denn 1910 mg Tomatensproß-Asche lösen nach Tabelle 3 bei Tomatenblättern einen Schädigungseffekt von rund 0,3 aus und 1860 mg Komplexon III je kg Lebendgewicht nach Tabelle 2 einen solchen von 2,67; also müßte die gesamte Schädigung rund 3,0 betragen; statt dessen sinkt sie auf 0,94 ab.

Werden die Aschenzusätze über die 1910 mg je kg Lebendgewicht hinaus gesteigert, so biegt die Kurve um, und die Schädigung nimmt wieder zu bis zu dem Betrag von 1,83 beim Aschenzusatz von 2700 mg je kg Lebendgewicht.

Da das Kurvenbild der Minimumkurve, wie es aus Abb. 6, Kurve a, hervorgeht, nach den Ausführungen von DEUEL (1954) ein wesentliches Merk-

mal des Chelierungseffektes darstellt, so möchten wir die Tatsache seines Bestehens noch an zwei weiteren (in Tabelle 5 kurz dargestellten) Versuchsreihen erhärten. Sie wurden mit anderen Aschen und zu anderen Jahreszeiten durchgeführt als die vierte Versuchsreihe und sind deshalb zahlenmäßig mit

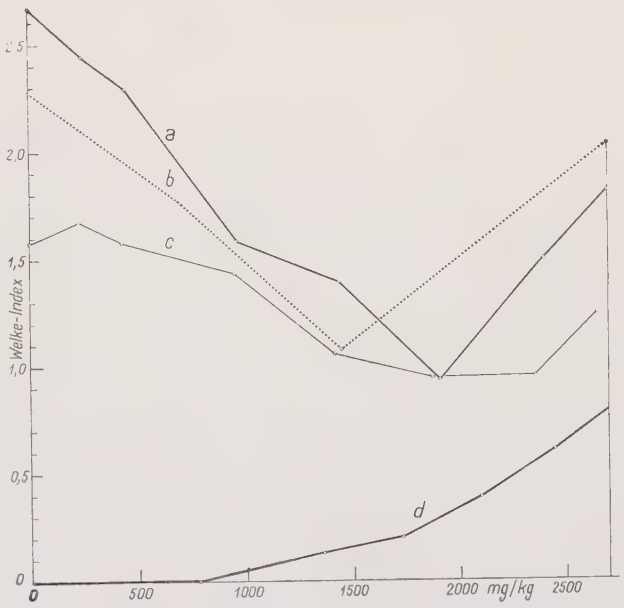


Abb. 6. Die Wirkung von Tomatensproß-Asche auf den Welke-Effekt von Komplexon III bei jungen Tomatensprossen. Sämtliche Sprosse erhielten als Grunddosis 1860 mg Komplexon III je kg Lebendgewicht verabreicht. Der Komplexonlösung wurden, je nach Stufe, steigende Mengen Tomatensproß-Asche beigefügt. Abszisse: Menge der beigefügten Tomatensproß-Asche. Ordinate: Welke-Index. Kurve a: Daten der vierten Versuchsreihe (Tabelle 4). Kurven b und c: Daten aus zwei weiteren, in Tabelle 5 rekapitulierten Versuchsreihen. Kurve d: Schädigung der Tomatensprosse nur durch steigende Gaben von Tomatensproß-Asche (Tabelle 3)

Tabelle 5

Die Wirkung von Tomatensproß-Asche auf den Welke-Effekt von Komplexon III bei jungen Tomatensprossen.

Sämtliche Sprosse erhielten als Grunddosis 1860 mg Komplexon III je kg Lebendgewicht; dieser Komplexonlösung wurden, je nach Stufe, steigende Mengen Tomatensproß-Asche beigefügt

Aschenzusatz mg je kg Lebendgewicht	Welke-Index	
	Stengel	Blätter
0	0	2,28 ± 0,49
700	0	1,77 ± 0,40
1450	0	1,08 ± 0,48
2700	0	2,05 ± 0,44
0	0,37	1,58 ± 0,40
228	0,13	1,68 ± 0,35
425	0,15	1,58 ± 0,50
950	0,17	1,44 ± 0,45
1415	0	1,06 ± 0,35
1878	0,17	0,95 ± 0,51
2360	0	0,96 ± 0,43
2650	0,13	1,25 ± 0,43

ihr nicht unmittelbar zu vergleichen (Abb. 6, Kurven b und c); die Kurve b enthält auch weniger Meßpunkte als die Kurve a; es ist deshalb sehr wohl möglich, daß bei ihr das wirkliche Minimum irgendwo zwischen den Aschengaben von 1450 und 2700 mg je kg Lebendgewicht liegt; aber ihrem Sinn nach verlaufen die Kurven b und c gleich wie die Kurve a: Beide erreichen ein Minimum der Schadwirkung, wenn sich der Zusatz an Tomatensproß-Asche in einer ähnlichen Größenordnung bewegt wie die Komplexon-III-Gabe.

Der Ordnung halber möchten wir auch hier betonen, daß in Tabelle 5 die wichtigen Intervalle statistisch gesichert sind; so beträgt der t-Wert für das Intervall 1,44 ± 0,45 bis 0,95 ± 0,51 3,585, bei einem $P_{0.01}$-Wert von 2,845; das Intervall ist also gut gesichert; dagegen ist beispielsweise das Intervall 0,96 ± 0,43 bis 1,25 ± 0,43 statistisch nicht gesichert, da der t-Wert nur 2,120 beträgt.

Für das Zusammenspiel „Chelierende Modellsubstanz + Tomatensproß-Asche" ist somit kennzeichnend,

1. daß ein Zusatz von Tomatensproß-Asche im Ausmaß von rund 10 % der natürlicherweise in den Sprossen vorhandenen Aschenmenge genügt, um den Chelierungseffekt der Modellsubstanz (Komplexon III) auf ein Minimum herabzusetzen, und
2. daß im Bereich dieser minimalen Schadwirkung die chelierende Modellsubstanz (Komplexon III) und die Tomatensproß-Asche größenordnungsmäßig in ungefähr derselben Gewichtsmenge verabreicht werden.

Falls somit die Schadwirkung von Lycomarasmin und Fusarinsäure bei steigenden Zusätzen von Tomatensproß-Asche ebenfalls derartige Merkmale aufweisen würde und falls sie insbesondere bei steigenden Aschenzusätzen ebenfalls eine Minimalkurve durchliefe, so wäre damit wahrscheinlich gemacht, daß auch bei diesen zwei Welketoxinen dieser Anteil der von ihnen ausgelösten Schädigung mit ihrer chelierenden Wirkung zusammenhängt.

Über die einschlägigen Versuche werden wir demnächst in einer zweiten Mitteilung berichten.

§ 3. Besprechung der Ergebnisse

Als Modellsubstanz für das Studium des Welkeeffektes, den eine chemische Verbindung infolge ihres Chelierungsvermögens bei jungen Tomatensprossen auslöst, wurde in der vorliegenden Arbeit das Komplexon III von SCHWARZENBACH und ACKERMANN (1947) gewählt, weil es bei jungen Tomatensprossen ähnliche Schädigungsbilder verursacht wie die später zu besprechenden Welketoxine Lycomarasmin und Fusarinsäure.

Werden einer Lösung von Komplexon III steigende Mengen von Tomatensproß-Asche zugesetzt,

so folgt die bei jungen Tomatensprossen ausgelöste Schädigung einer Minimumkurve (Abb. 6).

Der suboptimale Ast der Schädigungskurve verläuft absteigend; eine Steigerung der Zusätze von Tomatensproß-Asche führt in seinem Bereich zu einer Abnahme der bei jungen Tomatensprossen ausgelösten Schädigungen.

Die chelierende Modellsubstanz bindet offenbar in diesem suboptimalen Bereich in den jungen Tomatensprossen lebenswichtige Metallionen ab, blockiert sie gewissermaßen, entzieht sie dadurch dem Enzymstoffwechsel des Wirtes und verursacht im Wirte dementsprechende Mangelschäden. Durch steigende Zusätze von Tomatensproß-Asche wird jedoch dieses Chelierungsvermögen und mit ihm das Schädigungspotential der Modellsubstanz in steigendem Maße abgesättigt; die Toxizität der chelierenden Modellsubstanz für junge Tomatensprosse nimmt deshalb in diesem suboptimalen Bereich mit steigenden Aschenzusätzen ab.

Der supraoptimale Ast der Schädigungskurve verläuft dagegen aufsteigend; die Steigerung der Zusätze von Tomatensproß-Asche führt in seinem Bereich auch zu einer Steigerung der bei jungen Tomatensprossen ausgelösten Schädigungen. Der blockierende Effekt der chelierenden Modellsubstanz tritt offenbar in diesem supraoptimalen Bereich hinter einem neuen Effekt, den wir den Vehikeleffekt nennen möchten, zurück.

Der Vehikeleffekt besteht darin, daß Metallionen, die als solche nicht in dem entsprechenden Ausmaß in junge Tomatensprosse einzudringen vermöchten, hierzu wohl imstande sind, nachdem sie komplex an den Chelatbildner gebunden wurden; so ist es, wie wir in einer späteren Mitteilung zeigen werden, nicht möglich, $Fe^{\cdots}$ im Ausmaß einer Eisenchloridgabe von 200 mg je kg Lebendgewicht in die jungen Tomatensprosse einzuführen; komplex an den Chelatbildner gebunden, läßt sich dagegen Eisen auch bei Eisenchloridgaben von 500 mg je kg Lebendgewicht ohne Schwierigkeiten in die Tomatensprosse einbringen, überschwemmt sie gewissermaßen und ruft bei ihnen dementsprechend neue Schädigungen hervor.

Während im suboptimalen Bereich der Schädigungskurve der Mangeleffekt, der übermäßige Entzug lebenswichtiger Metallionen durch Chelierung, dominierte, überwiegt im supraoptimalen Bereich der Schädigungskurve der Überschwemmungseffekt, die Überschwemmung des Wirtes mit Metallionen, die in diesem Ausmaß überhaupt nur in cheliertem Zustande in die Tomatensprosse zu gelangen vermochten. Weitere Zusätze von Tomatensproß-Asche vergrößern deshalb in diesem supraoptimalen Bereich die Überschwemmung mit Metallionen noch mehr und lösen dementsprechend noch größere Schädigungen aus.

Der Chelatbildner ändert also im Falle unserer Versuchsanordnung mit steigenden Zusätzen von

Metallionen seine Funktion. Im suboptimalen Bereich nimmt er dem Wirt zuviel Metallionen weg und bewirkt Mangelschäden. Im supraoptimalen Bereich bringt er zuviel Metallionen in den Wirt hinein und bewirkt Überschwemmungsschäden; daher der Umschlag im Verlauf der Schädigungskurve von Komplexon III mit steigenden Aschenzusätzen. Entsprechend dem unterschiedlichen Schädigungsmechanismus sind die durch Aschenüberschuß ausgelösten Syndrome auch qualitativ von den Mangelsyndromen etwas verschieden.

Im Bereich des Minimums der Schadwirkung, d. h. des Umschlagpunktes der Schädigungskurve, halten sich offenbar die blokkierenden und die überschwemmenden Effekte des Chelatbildners ungefähr die Waage.

Das Zusammenspiel der verschiedenen Ionen und Ioneneffekte dürfte im Bereich dieses Minimums der Schadwirkung sehr kompliziert sein. Der Umschlagspunkt der Schädigungskurve entspricht ja der visuell, an Hand der Nekrosen usw., sichtbar werdenden Resultante aus einer größeren Zahl verschiedenartiger Komponenten. Diese Komponenten bestehen wohl zur Hauptsache in der gegenseitig sich konkurrenzierenden Chelierung der verschiedenen Metallionen, welche Chelierungen ihrerseits jede für sich vor oder nach dem Umschlagspunkt der Gesamtschädigung oder überhaupt nie ein Minimum durchlaufen. Vielleicht werden sich später, bei den Versuchen mit den einzelnen Metallionen, hierüber bessere Einsichten ergeben.

Um den Unterschied zwischen der schädigenden Wirkung noch deutlicher werden zu lassen, welche die Tomatensproß-Asche je nach dem Zustand, in welchem sie in junge Tomatensprosse eingeführt wird, auf diese Sprosse ausübt, nämlich ob rein in Wasser gelöst oder ob mit einer chelierenden Substanz zu einem wasserlöslichen Komplex verbunden, haben wir in Abb. 6 in Kurve d auch noch die Schädigungen (aus Tabelle 3) eingezeichnet, welche bei jungen Tomatensprossen nur von reiner Tomatensproß-Asche verursacht werden.

Bis und mit der Aschengabe von 780 mg je kg Lebendgewicht löst reine Tomatensproß-Asche nach Kurve d bei jungen Tomatensprossen keine Schädigungen aus, während dieselben Aschenmengen den Schädigungseffekt des Chelatbildners in den Kurven a und b, weniger bei c, deutlich herabsetzen.

In Gaben zwischen 780 und rund 1800 mg je kg Lebendgewicht schädigt reine Tomatensproß-Asche die jungen Tomatensprosse in steigendem Maße, während dieselben Aschenmengen das Schädigungsvermögen des Chelatbildners auch weiterhin vermindern. In diesem Bereich sind deshalb die Kurven a bis c und d gegenläufig.

Und oberhalb der Aschengaben von rund 1800 mg je kg Lebendgewicht setzen sich die Schädigungen bei reinen Aschengaben in Kurve d auch weiterhin fort, während nunmehr in Kurve a bis c auch bei der Verbindung Chelatbildner + Asche die Schädigungen fast parallel ansteigen, aber sich qualitativ etwas anders äußern (Abb. 5) als in der Kurve d bei reiner Asche.

Zusammenfassung

1. Im Zusammenhang mit der Frage, ob Lycomarasmin und Fusarinsäure im Innern des Wirtes (neben ihren sonstigen Schädigungsmöglichkeiten) auch als Komplexbildner wirken und einen Teil der für den Enzymstoffwechsel des Wirtes lebenswichtigen Metallionen abbinden, wurde in der vorliegenden ersten Mitteilung die welkeauslösende Wirkung einer chelierenden Modellsubstanz untersucht, nämlich beim Dinatriumsalz der Äthylendiamintetraessigsäure, das unter dem Namen Komplexon III in den Handel gebracht wird. Bei der Wahl derartiger Modellsubstanzen ist entscheidend, daß sie mit Metallionen wasserlösliche Chelate bilden und überdies bei jungen Tomatensprossen ähnliche Schädigungen auslösen wie die in Frage stehenden Welketoxine; nur dann ist mit einiger Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß sie diesen Wirt an einer ähnlichen Stelle und in ähnlicher Weise angreifen wie die betreffenden parasitogenen Toxine. 8-Oxychinolin ist deshalb als Vergleichsobjekt für Lycomarasmin und Fusarinsäure weniger geeignet, weil es, im Gegensatz zu Lycomarasmin, mit Metallionen wasserunlösliche Chelate bildet und überdies bei jungen Tomatensprossen andere Schädigungen auslöst als die beiden genannten Welketoxine, also andere spezifische Wirkungsorte besitzt als diese.

2. Falls ein Teil der schädigenden Wirkung, die von einer chemischen Verbindung auf junge Tomatensprosse ausgeübt wird, auf ihrem Chelierungsvermögen beruht, so muß dieser Anteil des Schädigungseffektes entscheidend beeinflußt werden, wenn man der betreffenden Verbindung steigende Mengen von Tomatensproß-Asche zusetzt; denn durch diese Zusätze von Tomatensproß-Asche wird das Chelierungspotential der betreffenden Substanz teilweise abgesättigt.

3. Werden zu einer Lösung von Komplexon III steigende Mengen von Asche aus jungen Tomatensprossen zugesetzt, so führt im suboptimalen Bereich eine Steigerung der Aschenzusätze zu einer Abnahme der Schadwirkung bei jungen Tomatensprossen; hernach durchläuft die Schädigungskurve ein Minimum und ändert den Richtungssinn; eine noch weitere Steigerung der Aschenzusätze führt im supraoptimalen Bereich der Schädigungskurve zu einer Zunahme der Schädigungsintensität bei jungen Tomatensprossen, wobei sich die Syndrome auch qualitativ etwas ändern. Diese Änderung im Richtungssinne der Schädigungskurve beruht offenbar darauf, daß der Chelatbildner im Falle unserer Versuchsanordnung mit steigenden Zusätzen von Metallionen seine Funktion ändert. Im suboptimalen Bereich nimmt er dem

Wirt zuviel Metallionen weg und bewirkt dadurch Mangelschäden; diese werden durch steigende Gaben von Tomatensproß-Asche sukzessive gemildert. Im supraoptimalen Bereich bringt dagegen der Chelatbildner zuviel Metallionen in den Wirt hinein und führt dadurch zu Überschwemmungsschäden; diese werden durch steigende Gaben von Tomatensproß-Asche noch mehr verschlimmert. Steigende Zusätze von Metallionen zu einer chelierenden Substanz können deshalb je nach dem Bereich, in welchem sie verabreicht werden, entgegengesetzte Wirkungen haben.

Literaturverzeichnis

Deuel, H., 1954.

Gäumann, E., Naef-Roth, St., und Kobel, H., 1952: Über Fusarinsäure, ein zweites Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Z. **20**, 1—38.

— —, — — und Miescher, 1950: Untersuchungen über das Lycomarasmin. l. c. **16**, 257—288.

— —, — —, Reusser, P., und Ammann, A., 1952: Über den Einfluß einiger Welketoxine und Antibiotica auf die osmotischen Eigenschaften pflanzlicher Zellen. l. c. **19**, 160—220.

Linder, A., 1951: Statistische Methoden für Naturwissenschafter, Mediziner und Ingenieure. 2. Aufl. Birkhäuser, Basel, 238 S.

Schwarzenbach, G., 1952: Der Chelateffekt. Helv. chim. Acta **35**, 2344—2359.

— — und Ackermann, H., 1947: Komplexone V. Die Aethylen-diamin-tetraessigsäure. l. c. **30**, 1789—1804.

Waggoner, P. E., and Dimond, A. E., 1953: Role of chelation in causing and inhibiting the toxicity of Lycomarasmin. Phytopath. **43**, 281—284.

Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule Braunschweig
Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner

Untersuchungen über die Temperatur- und Lichtabhängigkeit der Sporenkeimung verschiedener *Tilletia*-Arten

Von

G. Gassner und E. Niemann

Mit 16 Abbildungen

I. Einleitung

In den letzten Jahren hat sich der Zwergsteinbrand des Weizens sowohl in Süddeutschland (Malmus 30, Wagner 47, 48, Rademacher 38, Warmbrunn 49) wie auch in den USA (Young 50, Holton and Heald 20, Blodgett 2, Tyler 45, Rodenhisser and Holton 41) stark verbreitet und nach Mitteilung von Pichler (34) auch bereits auf Österreich übergegriffen. Nach allen vorliegenden Untersuchungen (Young 50, Holton and Suneson 21, Holton, Bamberg and Woodward 19, Wagner 48, Warmbrunn 49, Gassner 14, Böning, Wagner und v. Minckwitz 4, Röder 42) wird er vorwiegend durch den Boden übertragen und ist, da eine Bekämpfung mit den üblichen Methoden bisher nicht möglich war, zu einer ernsten Gefahr für den Weizenanbau geworden. Eine sichere Bekämpfung, sei es durch Resistenzzüchtung, Bodenbehandlung mit chemischen Mitteln oder Kulturmaßnahmen, setzt eine genaue Kenntnis des Infektionsvorganges voraus, wobei vor allem die Keimungsphysiologie der Steinbrandsporen von Interesse ist.

Über die Bedingungen der Sporenkeimung ließen sich bisher nur unsichere Angaben machen (Holton 17, 18, Lowther 27, Wagner 48, Warmbrunn 49), von denen vor allem die Untersuchungen Lowthers über die Abhängigkeit der Sporenkeimung von tiefen Temperaturen Beachtung verdienen. Erst durch die vor kurzem erfolgte Veröffentlichung von Gassner (14) über die Lichtabhängigkeit der Zwergsteinbrandkeimung, die inzwischen von Böning, Wagner und v. Minckwitz (4), Pichler (35) sowie Röder (42) bestätigt wurde, ist auch hier ein wesentlicher Schritt zum Verständnis dieser Krankheit getan.

Die vorliegenden eigenen Untersuchungen umfassen neben dem Zwergsteinbrand des Weizens noch andere *Tilletia*-Arten. Dies erschien schon deshalb erwünscht, weil die systematische Abgrenzung des Zwergsteinbrandes noch keinesfalls geklärt ist (WAGNER 48, WARMBRUNN 49, FISCHER 10). Außer *Tilletia tritici* (Bjerk.) Winter, dem gewöhnlichen Steinbrand des Weizens, wurde vor allem noch der Roggensteinbrand hinzugezogen, da dieser sowohl in keimungsphysiologischer Hinsicht wie auch betreffs der Infektionsbedingungen sehr dem Zwergsteinbrand ähnelt (VOLKART 46, PICHLER 33).

Diese Art tritt nach PICHLER in den letzten Jahren teilweise sehr stark in Österreich auf, hat jedoch auch früher schon in einzelnen Jahren (RABENHORST 36, v. NIESSL 31, COHN 8, SCHROETER 43, MALKOFF 29, BUBÁK 5, JACZEWSKI 22, BUCHHEIM 6) besonders in Böhmen, Schlesien, Bulgarien und Rußland starke Schäden hervorgerufen, um dann wieder lange Zeit nicht in Erscheinung zu treten.

Die vorliegende Arbeit umfaßt Untersuchungen über die Abhängigkeit der Steinbrandkeimung von physikalischen Faktoren. Sie wurden vom Sommer 1952 bis Ende des Jahres 1953 durchgeführt und aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft finanziert, der wir hierfür unseren Dank sagen. Über weitere Untersuchungen zur Keimung von *Tilletia* sowie über die im Jahre 1952/53 durchgeführten Infektionsversuche wird demnächst berichtet werden.

II. Material

Eine systematische Abgrenzung der drei untersuchten Formen gegeneinander ist erst auf Grund weiterer Untersuchungen möglich. Es werden daher im folgenden alle bisher in der Literatur gebräuchlichen Bezeichnungen ohne eigene Stellungnahme angeführt.

1. Zwergsteinbrand des Weizens (Kurzsteinbrand, Zwergbrand, dwarf bunt of wheat) [*Tilletia tritici nanifica* Wagner, *Tilletia brevifaciens* Fischer, *Tilletia tritici* (Bjerk.) Winter, *Tilletia caries* Tul.]

   Herkunft 1950 Lützelalb
   Herkunft 1952 Pflanzenschutzamt Stuttgart
   Herkunft 1953 Braunschweig (eigene Ernte)

2. Roggensteinbrand [*Tilletia secalis* Kcke. *Tilletia tritici f. sp. secalis* Pichler *Tilletia tritici* (Bjerk.) Winter]

   Herkunft 1952 Rauris (Österreich)
   Herkunft 1953 Braunschweig (eigene Ernte)

3. Gewöhnlicher Steinbrand (Weizensteinbrand, großer Steinbrand) [*Tilletia tritici* (Bjerk.) Winter *Tilletia caries* Tul.]

   Herkunft 1950 Magdeburg
   Herkunft 1952 Magdeburg
   Herkunft 1953 Braunschweig (eigene Ernte)

Herrn Dr. PICHLER und dem Pflanzenschutzamt Stuttgart danken wir für das übersandte Sporenmaterial.

III. Methodik

Da sich für Keimungsuntersuchungen von Steinbrandsporen ein Schlämmboden aus lehmiger Ackererde besonders gut als Keimsubstrat bewährt hat (Lang 25, Gassner und Rabien 13), wurde dieses Keimsubstrat auch hier allgemein verwendet. Die Bereitung erfolgte in der bei Gassner und Rabien angegebenen Weise. Der Schlämmboden muß dabei so trocken sein, daß er nicht mehr glänzt und sich noch gerade unter leichtem Druck mit dem Finger eindrücken läßt, ohne dabei noch zu kleben (Wassergehalt im Schlämmboden etwa 17 bis 23 %).

Die Brandbutten wurden im Mörser zerrieben; die Sporen abgesiebt und — mit der vierfachen Wassermenge angerührt — auf den Schlämmboden ausgestrichen.

Ablesung erfolgte mit einem Binokular bei 32facher Vergrößerung und Auflichtbeleuchtung einmal wöchentlich (bei gewöhnlichem Steinbrand öfter). Es läßt sich so nur die Bildung der Sporidien, nicht aber die eigentliche Keimung (Hervortreten des Promyzels) erfassen, so daß die Verwendung des Begriffes „Keimung" hier nicht ganz exakt ist. Da jedoch für einen Infektionserfolg die Bildung von Sporidien bzw. deren Fusionsprodukt Voraussetzung ist (Flor 11, Churchward 7, Holton 17), erscheint diese Art der Ablesung berechtigt.

Die Sporidienbildung (Keimung) wurde wie folgt bonitiert

0 = keine Keimung,
0,1 = weniger als 10 Sporen je Petrischale (9 cm ⌀) gekeimt,
0,3 = etwa 5 Sporen im Gesichtsfeld (21 qmm) gekeimt,
0,5 = etwa 20 Sporen im Gesichtsfeld (21 qmm) gekeimt,
0,7 = etwa 50 Sporen im Gesichtsfeld (21 qmm) gekeimt,
1,0 = Keimung makroskopisch eben als schwachgrauer Schimmer zu erkennen, etwa 200 Sporen im Gesichtsfeld gekeimt,
2,0 = makroskopisches Aussehen der Ausstriche deutlich grau,
3,0 = makroskopisches Aussehen der Ausstriche weißgrau,
4,0 = makroskopisches Aussehen der Ausstriche rein weiß, dicht filzig. Zwischen den Sporidien keine Sporen mehr zu erkennen.

Zwischenstufen wurden mit 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 0,9 bzw. 1,5; 2,5; 3,5 bonitiert. Die Werte werden der Kürze halber in der Arbeit als Keimzahl bezeichnet.

Da die gebildeten Sporidien — besonders schnell bei höheren Temperaturen — bald wieder aufgelöst werden, wobei es offenbleiben muß, ob es sich um eine Auflösung durch andere Mikroorganismen handelt (Bamberg 1, Johnson 23), oder aber, ob das Auswachsen der Sporidien zum Infektionsmyzel die Ursache hierfür ist, wurde meist nur die höchste während des Versuchs beobachtete Keimung angeführt.

Zur Aufstellung der Versuche standen folgende Temperaturen zur Verfügung, wobei mit den angegebenen Schwankungen zu rechnen ist:

— 5 °C (— 3° bis — 7°)	elektrische Kühltruhe mit automatischer Regulierung,
+ 2 °C (+ 0,5° bis + 3°)	elektrische Kühltruhe mit automatischer Regulierung,
+ 3 °C (+ 2,5° bis + 4°)	Kühlraum mit Ventilatorverdampfer der Firma Frigidaire und automatischer Regulierung,
+ 5 °C (+ 4° bis + 6°)	elektrische Kühltruhe mit automatischer Regulierung,
+ 12 °C (+ 9° bis + 15°)	wassergekühlter, unbeheizter Thermostat oder eine eisgekühlte Truhe,
+ 20 °C (+ 18° bis + 23°)	zentralgelegener Kellerraum,
+ 24 °C (+ 23° bis + 25°)	Klimaraum mit automatischer Regulierung.

Von Gassner (12) wurden die Begriffe der relativen Dunkelheit und der absoluten Dunkelheit eingeführt; wobei im ersten Fall die

Versuche bei jeder Ablesung kurze Zeit dem Licht ausgesetzt werden, während bei absoluter Dunkelheit jede Ablesung zugleich das Ende des Versuches bedeutet. Diese Bezeichnungen werden hier in gleicher Weise verwendet. Die bei absoluter Dunkelheit aufgestellten Versuchsschalen wurden in lichtdichte Blechdosen mit übergreifendem Deckel eingestellt. Die Versuche, für die relative Dunkelheit angegeben ist, waren entweder frei in den unbelichteten Thermostaten bzw. Kühlräumen aufgestellt (Lichtzutritt bei den wöchentlichen Ablesungen jeweils eine bis drei Stunden), oder sie waren ebenfalls in Blechdosen eingestellt, die nur zur Ablesung geöffnet wurden.

Belichtung erfolgte in den Versuchen, bei denen die Wirkung des Lichtes auf die Keimung der Steinbrandsporen zu untersuchen war, durch mehrere Osram-Leuchtröhren (Warmton) von je 40 W. Die Leuchtröhren waren nebeneinander in 45 cm Abstand über den Versuchsschalen angebracht, und zwar entweder direkt im Kühlraum, wobei eine örtliche Erwärmung der Versuche durch dauernde Luftumwälzung im Raum ausgeschaltet war, oder aber unmittelbar über den nach oben mit einer Glasplatte abgedeckten elektrischen Kühltruhen. Zur Messung der Lichtintensität diente ein Luxmeter.

Da jeweils nur ein beschränkter Raum mit gleichen Licht- und Temperaturverhältnissen zur Verfügung stand, konnten die Versuche zum Teil nicht in der erwünschten Zahl von Parallelen angesetzt werden. Es wurden jedoch fast alle angeführten Versuche durch Wiederholungen gesichert.

IV. Temperaturabhängigkeit

A. Temperaturwirkung bei relativer Dunkelheit

1. Zwergsteinbrand. HOLTON (18) konnte durch längeres Vorweichen der Zwergsteinbrandsporen in Brunnenwasser von + 4° C Keimungen erzielen. Nach WAGNER (48) und WARMBRUNN (49) sind diese Angaben jedoch nicht reproduzierbar. LOWTHER (27) prüfte die Wirkung tiefer Temperaturen auf die Zwergsteinbrandkeimung. Alle von ihm untersuchten Herkünfte keimten ohne weitere Vorbehandlung bei + 5° sehr gut; bei 0° waren nur einzelne Sporen gekeimt; bei + 10° keine Keimung.

Nachdem eigene Vorversuche bei einer Temperatur von + 12° C auch bei längerer Versuchsdauer nur spurenweise Keimung ergeben hatten, wurde eine Versuchsreihe bei verschiedenen Temperaturen (+ 24°, + 12°, + 5°, + 2°) in relativer Dunkelheit aufgestellt — Tabelle 1.

Schwache Keimungen erfolgten vor allem bei + 2° und + 5°; bei + 12° konnte nur ganz vereinzelt Keimung beobachtet werden, so daß diese Temperatur etwa die maximale Keimtemperatur für den Zwergsteinbrand darstellen dürfte bzw. schon etwas darüber liegt. Die ersten Keimungen waren im allgemeinen nach 26 bis 36 Tagen zu beobachten. Die in der Tabelle angeführte Zeitdauer bis zum Erreichen der höchsten Keimung ist mit 53 bis 104 Tagen verhältnismäßig lang.

In der Natur sind die keimenden Sporen nicht konstanten Temperaturen ausgesetzt, sondern es tritt ein Temperaturwechsel auf. Es wurde daher die Wirkung von Wechseltemperaturen auf die Sporenkeimung geprüft (Tabelle 2). Die wärmere Temperatur kam täglich 9 Stunden, die kältere Temperatur

Tabelle 1

Keimung von Zwergsteinbrand und Roggensteinbrand bei verschiedener Temperatur

Relative Dunkelheit
Mittel aus vier Versuchsschalen

Temperatur	Zwergsteinbrand Herkunft 1952 Höchste Keimzahl innerhalb 104 Tagen		Roggensteinbrand Herkunft 1952 Höchste Keimzahl innerhalb 104 Tagen	
	Keimzahl	nach Tagen	nach Tagen	Keimzahl
+ 2° C	0,8	104	0,9	45
+ 5° C	0,3	53	0,8	36
+ 12° C	0,1	80	0,2	78
+ 24° C	0	104	0	104

Tabelle 2

Keimung von Zwergsteinbrand und Roggensteinbrand bei täglich intermittierender Temperatur

Relative Dunkelheit
Mittel aus vier Versuchsschalen

Täglicher Temperaturwechsel		berechnete Tagesmittel-Temperat.	Zwergsteinbrand Herkunft 1952 Höchste Keimung innerhalb 125 Tagen		Roggensteinbrand Herkunft 1952 Höchste Keimung innerhalb 125 Tagen	
9 Std.	15 Std.		Keimzahl	n. Tagen	Keimzahl	n. Tagen
+ 5° C	+ 2°	+ 3,1°	0,5	48	0,8	36
+ 12° C	+ 2°	+ 5,7°	0,3	119	0,3	26
+ 12° C	+ 5°	+ 7,6°	0,5	115	0,3	26
+ 24° C	+ 2°	+ 10,2°	0	125	0	125
+ 24° C	+ 5°	+ 12,1°	0	125	0	125
+ 24° C	+ 12°	+ 16,5°	0	125	0	125

15 Stunden zur Einwirkung. Um eine Vergleichsbasis zu schaffen, ist für jede Kombination noch die berechnete Mitteltemperatur angegeben. Die Aufstellung der Versuchsschalen erfolgte auch hier bei relativer Dunkelheit.

In allen Keimschalen, die neun Stunden am Tag bei + 24° C aufgestellt waren, erfolgt innerhalb 125 Tagen keine Keimung, obwohl die mittlere Temperatur der Zusammenstellung + 24°, + 2° erst + 10,2 ° beträgt. Bei Zusammenstellungen zwischen + 12°, + 5° und + 2° trat schwache Sporenkeimung auf. In einem ergänzenden Versuch mit einem täglichen Temperaturwechsel: 6 Stunden bei + 20°, 18 Stunden bei + 3° war gleichfalls keine Keimung zu beobachten.

Die bisherigen Versuche umfassen nur Temperaturen über Null; es blieb noch zu prüfen, wie die Sporenkeimung durch zeitweise Einwirkung von

Frost beeinflußt wird. Wurden Keimschalen mit Zwersteinbrandsporen abwechselnd je eine Woche bei — 5 ° und eine Woche bei + 12 ° aufgestellt (relative Dunkelheit), so erfolgte innerhalb von 106 Tagen keine Keimung. Wird ein Temperaturwechsel in der Art: drei Tage + 5°, ein Tag — 5° geboten (Tabelle 3), so wird die Keimung, verglichen mit Aufstellung bei konstanter Temperatur von + 5°, etwas verzögert, in der Keimzahl jedoch nur unbedeutend herabgesetzt.

Tabelle 3

Wirkung von Frosttemperatur auf die Keimung des Zwergsteinbrandes und Roggensteinbrandes

Relative Dunkelheit. Mittel aus zwei Versuchsschalen

Temperatur	Zwergsteinbrand Herkunft 1952 Höchste Keimung innerh. 77 Tagen		Roggensteinbrand Herkunft 1952 Höchste Keimung innerh. 77 Tagen	
	Keimzahl	nach Tagen	Keimzahl	nach Tagen
Konstant: + 5 ° C	0,8	70	0,7	28
Wechsel: 3 Tage + 5 ° C / 1 Tag — 5 ° C	0,5—0,6	77	0,6	45

2. Roggensteinbrand. Für diese Art lagen noch keine Literaturangaben zur Keimung vor. Unsere Untersuchungen über die Temperaturansprüche der Keimung des Roggensteinbrandes sind gleichfalls in Tabelle 1 angeführt. Auch hier wird in relativer Dunkelheit die beste Keimung bei Temperaturen von + 2° und + 5 ° C erhalten. Bei + 12° nur spurenweise Keimung. Die Kardinalpunkte für die Sporenkeimung dürften demnach ähnlich liegen wie beim Zwergsteinbrand. Allerdings erfolgt die Keimung des Roggensteinbrandes allgemein schneller als beim Zwergsteinbrand, da bereits nach 14 Tagen die ersten Keimungen zu beobachten waren, und die höchste Keimung während der Versuchsdauer nach 36 bis 78 Tagen erreicht war. Unsere Befunde über die Temperaturabhängigkeit der Roggensteinbrandkeimung decken sich mit den in letzter Zeit von PICHLER (35) veröffentlichten Untersuchungen, der gleichfalls bei niederen Temperaturen Sporenkeimung erzielen konnte.

Auch bei intermittierender Temperatur (Tabelle 2) ähnelt der Roggensteinbrand im Keimverhalten dem Zwergsteinbrand. Kurzfristige tägliche Aufstellung bei + 24 ° C verhindert die Keimung völlig. Bei den Kombinationen zwischen + 2°, + 5° und + 12° erfolgt schwache Keimung. Eine Wiederholung der Versuche mit einem Temperaturwechsel: 6 Stunden täglich bei + 20°, 18 Stunden täglich bei + 3° ergab gleichfalls keine Sporenkeimung.

Der in Tabelle 3 angeführte Versuch mit Einschaltung einer Frostperiode an jedem vierten Tag gibt, wie beim Zwergsteinbrand so auch hier, eine Verzögerung der Keimung durch die Frosttemperatur. Die Keimzahl ist nur unwesentlich herabgesetzt.

3. Gewöhnlicher Steinbrand. Für diesen werden allgemein Temperaturen von + 15° bis + 20° C als günstigste Keimtemperatur angegeben (Hecke 16, Hahne 15, Rabien 37, Feucht 9, Lobik und Dahlstrem 26), wobei sich diese Angaben allerdings meist mehr auf die Keimgeschwindigkeit als auf die Stärke der Sporidienbildung beziehen. Von Hahne, Lobik und Dahlstrem und v. Olgyay (32) wird jedoch zugleich hervorgehoben, daß niedrigere Temperaturen die Keimung wohl verzögern, die Stärke der Sporidienbildung aber fördern. Als Minimum für die Sporenkeimung führte Hahne eine Temperatur von + 3° bis + 4° an.

Abb. 1 (oben) gibt das Ergebnis der eigenen Untersuchungen über die Sporenkeimung bei konstanter Temperatur in relativer Dunkelheit. Die rechte Darstellung zeigt die höchste während der Versuchsdauer erreichte Keimung; die linke Darstellung den Tag, an dem diese Keimung abgelesen wurde. In Übereinstimmung mit den Angaben der Literatur zeigt sich die Keimung durch höhere Temperaturen beschleunigt, während die stärkste Sporidienbildung bei + 5° und + 2° zu erreichen ist. Das Minimum der Keimtemperatur dürfte demnach — etwas tiefer als bisher angenommen — unterhalb + 2°, das Maximum über + 24° C anzusetzen sein. Die optimale Keimtemperatur liegt, sofern man nur die Menge der gebildeten Sporidien (Keimzahl) berücksichtigt, bei + 2° bis + 5°. Betrachtet man hingegen nur die Zeitdauer bis zum Erreichen dieser höchsten Keimzahl, so gelten

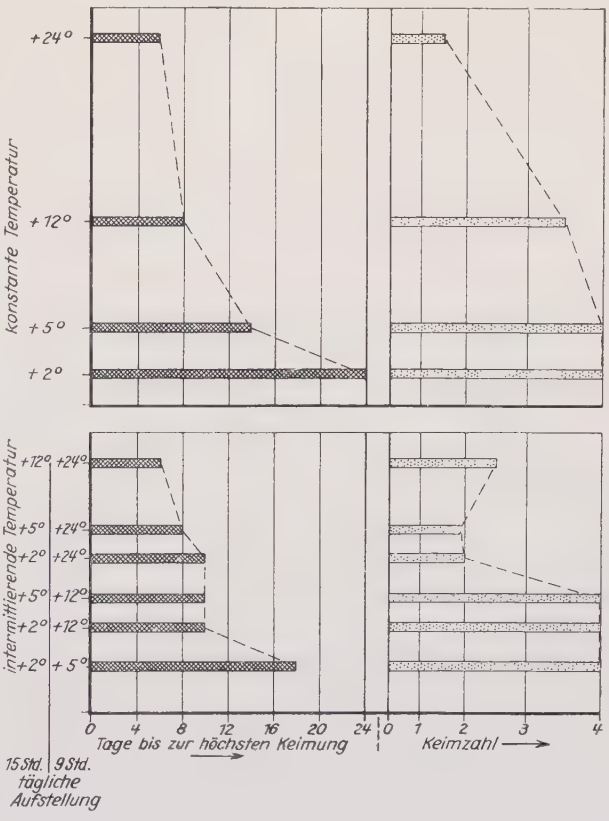


Abb. 1. Temperaturabhängigkeit der Sporenkeimung des gewöhnlichen Steinbrandes. Sporen: Herkunft 1952. Aufstellung bei relativer Dunkelheit. Mittel aus vier Versuchsschalen. Rechts: Höchste während der Versuchsdauer (48 Tage) beobachtete Keimung. Links: Zeitdauer in Tagen bis zum Erreichen der höchsten Keimung

Temperaturen von + 24° oder höher als optimal. Allgemein erfolgt die Keimung bzw. Sporidienbildung bei allen Temperaturen wesentlich schneller als beim Zwerg- und Roggensteinbrand (vgl. Tabelle 1 und 2), und ist bei relativer Dunkelheit sehr viel stärker als bei diesen beiden Arten.

Kurzfristige tägliche Einwirkung von + 24° C, einer Temperatur also, die noch etwas unterhalb der maximalen Keimtemperatur liegt, setzt auch beim gewöhnlichen Steinbrand die Keimung stark herab (siehe untere Darstellung in Abb. 1). 15stündige tägliche Aufstellung bei optimaler Temperatur von + 2° bis + 12° vermag demnach nicht die hemmende Wirkung der neunstündigen Aufstellung bei hoher Temperatur aufzuheben. Bei den übrigen Temperaturzustammenstellungen zwischen + 2°, + 5° und + 12° erfolgte gute Keimung.

B. Temperaturwirkung bei Dauerbeleuchtung

1. Zwergsteinbrand. Die im vorigen Abschnitt angeführten Versuche wurden bei relativer Dunkelheit durchgeführt. Nachdem sich in weiteren Versuchen die Lichtabhängigkeit der Zwergsteinbrandkeimung ergeben hatte, war zu prüfen, ob die gefundene Abhängigkeit von der Temperatur auch bei gleichzeitiger Belichtung bestehen bleibt.

Keimversuche bei verschiedener Temperatur und zusätzlicher Beleuchtung konnten aus technischen Gründen nur bei Temperaturen von — 5°, + 3°, + 5° und + 20° C durchgeführt werden. Keimungen erfolgten hierbei stets nur bei + 3° und + 5°. Sie waren allgemein wesentlich stärker als die bei gleicher Temperatur in relativer Dunkelheit beobachteten Keimungen. Temperaturen von — 5° und + 20° waren auch bei Dauerbeleuchtung keimunwirksam.

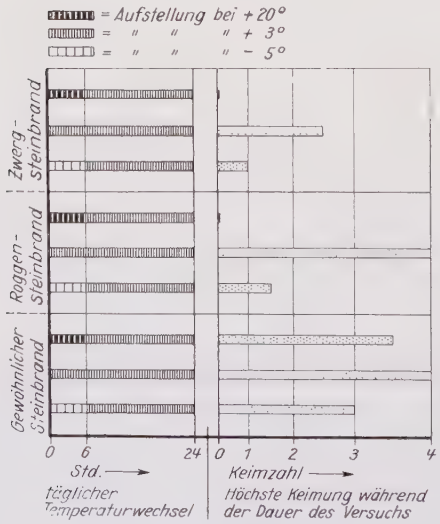


Abb. 2. Keimung bei täglich intermittierender Temperatur. Sporen und Versuchsdauer: Zwergsteinbrand 1953 — 68 Tage; Roggensteinbrand 1953 — 54 Tage; Gewöhnlicher Steinbrand 1953 — 26 Tage. Aufstellung im Dauerlicht 1000 bis 1200 Lux

Eine Versuchsserie wurde bei täglich intermittierender Temperatur: 18 Stunden bei + 3°, 6 Stunden täglich bei keimunwirksamer Temperatur von + 20° bzw. — 5° C bei Dauerbelichtung aufgestellt (Abb. 2, oben). Die sechsstündige Aufstellung bei + 20° verhindert die Keimung völlig. Gleich lange kurzfristige Aufstellung bei — 5° setzt die Keimzahl nur herab (Keimzahl 1 gegenüber 2,5 in der Kontrolle), wirkt also weniger hemmend als die hohe Temperatur.

Zur Bekämpfung von Zwergsteinbrand ist es von Bedeutung zu wissen,

zu welcher Zeit mit gekeimten Sporen — also infektionsfähigen Stadien des Parasiten — im Boden zu rechnen ist. Es interessiert dabei, ob während einer Vorkultur bei keimunwirksamer Temperatur in den Sporen bereits keimvorbereitende Vorgänge ablaufen. Zur Beantwortung dieser Frage wurden die Keimschalen mit den Steinbrandsporen nach dem Ausstreichen 21 Tage bei + 20° bzw. — 5° C am Licht vorkultiviert, dann auf keimwirksame Temperatur von + 3°, gleichfalls am Licht, umgestellt. Die Kontrolle wurde erst zum Zeitpunkt dieser Umstellung (Tag 0) ausgestrichen (Abb. 3). Von diesem Tage an gerechnet, erfolgten die ersten Keimungen beim Zwergsteinbrand sowohl in der Kontrolle (a) wie nach Vorkultur bei hoher (b) oder tiefer (c) Temperatur in allen Fällen nach 26 Tagen (wöchentliche Ablesung), unabhängig von der Dauer der Vorkultur. Ein gleiches Ergebnis hatten auch verschiedene Vorversuche bei relativer Dunkelheit erbracht: die ersten Keimungen waren immer 22 bis 26 Tage nach dem Umstellen auf keimwirksame Temperatur zu beobachten

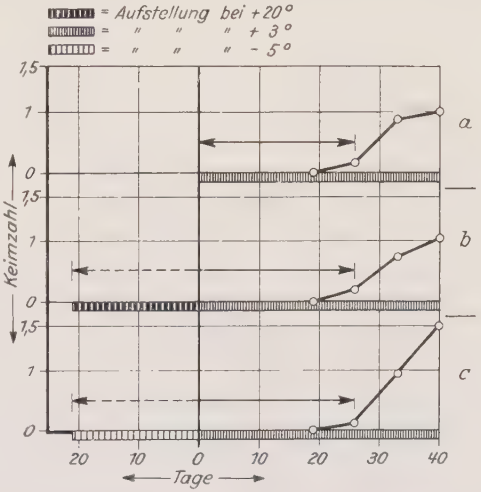


Abb. 3. Vorkultur von Zwergsteinbrand bei verschiedener Temperatur. Sporen: Herkunft 1952. Aufstellung im Dauerlicht 1000 bis 1200 Lux. Mittel aus zwei Versuchsschalen. ←– – –→ = Zeitdauer bis zum Auftreten der ersten Sporenkeimung

Die ersten, die Keimung einleitenden Prozesse sind demnach empfindlich gegen hohe (+ 20°) oder tiefe (— 5°) Temperaturen und können erst eingeleitet werden, wenn keimwirksame Temperatur (+ 3°) geboten wird. Um festzustellen, wie weit die folgenden Abschnitte temperaturabhängig sind, wurden Keimschalen nach dem Ausstreichen der Sporen erst 21 Tage bei + 3° vorkultiviert und dann auf + 20° umgestellt. Es erwies sich, daß in diesem Fall nach 30 bis 40 Tagen, also während der Aufstellung bei + 20°, eine geringfügige Keimung (Keimzahl 0,3) erfolgt. Der zweite Abschnitt der Keimung nach Ablauf der ersten drei Wochen scheint demnach nicht ganz so empfindlich gegen hohe Temperaturen zu sein wie der erste Keimungsabschnitt. Durch Frosttemperatur, geboten im Anschluß an eine dreiwöchige Aufstellung bei + 3° wurde die Keimung völlig unterdrückt.

2. Roggensteinbrand. Keimversuche bei verschiedener Temperatur (— 5°, + 3°, + 5°, + 20° C) und Dauerbelichtung ergaben, wie schon bei relativer Dunkelheit, nur bei + 3° und + 5° Keimungen.

Täglich intermittierende Temperatur: 18 Stunden bei + 3°, 6 Stunden bei keimunwirksamer hoher oder tiefer Temperatur (Abb. 2, mittlere Darstellung) wirkt bei Dauerbelichtung ähnlich auf die Sporenkeimung des Rog-

gensteinbrandes wie beim Zwergsteinbrand. In der Kontrolle, die dauernd bei einer Temperatur von + 3° verblieb, wird die Keimzahl 4 erreicht. Wird täglich sechs Stunden auf + 20° umgestellt, so ist die Keimung dadurch völlig sistiert; sechsstündige tägliche Aufstellung bei — 5° setzt die Keimung herab (Keimzahl 1,5), kann sie aber nicht völlig verhindern.

Ein Vorversuch, bei dem die Roggensteinbrandsporen einige Zeit bei — 5° oder + 20° C vorkultiviert und dann erst auf + 3° umgestellt wurden, zeigte auch hier, daß die Keimungsvorgänge erst in dem Augenblick eingeleitet werden, wo die Umstellung der Sporen auf keimwirksame Temperatur (+ 3°) erfolgt. Von diesem Zeitpunkt an vergehen 12 bis 17 Tage bis zum Sichtbarwerden der ersten Keimung. Die ersten Abschnitte der Keimung müssen daher auch bei den Roggensteinbrandsporen stark durch hohe und tiefe Temperaturen gehemmt sein.

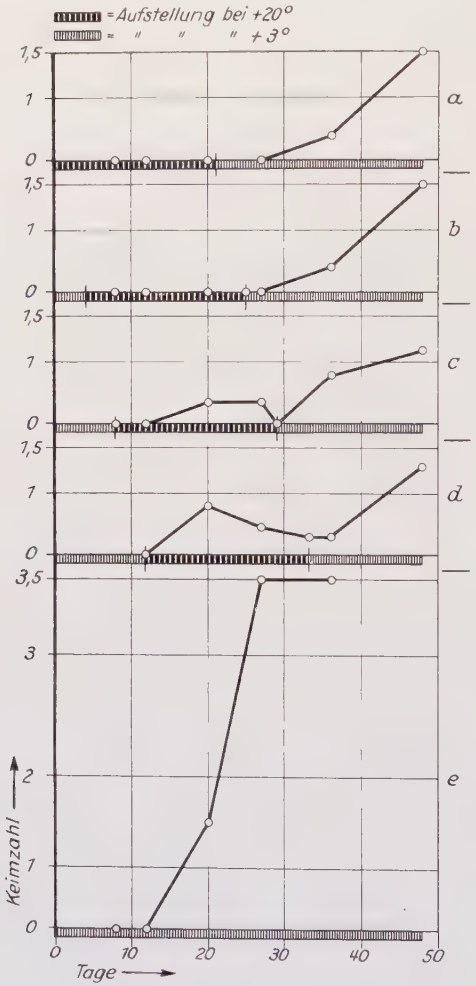


Abb. 4. Wirkung höherer Temperatur auf die Keimung der Roggensteinbrandsporen. Sporen: Herkunft 1953. Aufstellung im Dauerlicht 1000 bis 1200 Lux. Mittel aus zwei Versuchsschalen

Diese Anpassung an einen engbegrenzten Temperaturbereich gilt nur für die einleitenden Abschnitte der Keimung, die etwa ein bis zwei Wochen andauern dürften. Werden die Sporen erst einige Zeit bei + 3° C vorkultiviert, dann drei Wochen auf + 20° umgestellt (Abb. 4), so zeigt sich, daß die eigentliche Keimung und Sporidienbildung auch noch bei + 20° erfolgen kann, sofern die Sporenausstriche zu Beginn des Versuches acht bis zwölf Tage bei + 3° gestanden hatten (Versuch c und d). Die gebildeten Sporidien werden aber schnell wieder aufgelöst, so daß die Keimzahl nach längerer Aufstellung bei einer Temperatur von + 20° wieder zurückgeht, um nach Umstellung auf + 3° dann nochmals wieder anzusteigen.

Dies dürfte sich dadurch erklären, daß für die Versuche kein einheitliches Sporenmaterial verwendet wurde, sondern ein Gemisch von Sporen aus ver-

schiedenen Ähren. Beim gewöhnlichen Steinbrand unterscheiden sich, wie GASSNER (12) nachwies, Steinbrandstämme aus verschiedenen Ähren sehr in ihrer Keimschnelligkeit. Ein Gleiches ist für die Roggensteinbrandsporen zu vermuten. Nur die Sporen, bei denen bei Umstellung auf höhere Temperatur die ersten, temperaturempfindlichen Abschnitte der Keimung bereits abgeschlossen waren, können bei + 20° zur Keimung und Sporidienbildung kommen. Auf Sporen, bei denen diese ersten Keimabschnitte nach acht bis zwölf Tagen noch nicht abgeschlossen waren, wirkt die hohe Temperatur auch nach dieser Zeit noch keimungshemmend. Sie gelangen erst dann zur Keimung, wenn wieder von + 20° auf tiefere Temperatur umgestellt wird.

3. Gewöhnlicher Steinbrand. Für den gewöhnlichen Steinbrand gibt Abb. 2 (unten) das Ergebnis eines Versuches bei täglich intermittierender Temperatur und Dauerbelichtung. Sowohl die Einwirkung der Frosttemperatur wie auch die hohe Temperatur (+ 20° liegt beim gewöhnlichen Steinbrand noch unterhalb der maximalen Keimtemperatur) setzen die Keimung um ein geringes herab, wirken aber nicht so stark hemmend wie beim Zwerg- und Roggensteinbrand.

Ein unterschiedliches Verhalten der einzelnen aufeinanderfolgenden Abschnitte der Keimung hinsichtlich ihrer Temperaturabhängigkeit ließ sich in weiteren diesbezüglichen Versuchen für den gewöhnlichen Steinbrand nicht feststellen.

V. Lichtabhängigkeit

A. Lichtintensität

1. Zwergsteinbrand. Zur Durchführung von Infektionsversuchen wurden im Herbst 1952 in größerem Ausmaß Zwergsteinbrandsporen zur Keimung bei + 5° in einer dunklen, nicht für andere Zwecke verwendeten Kühltruhe aufgestellt. Nach acht Wochen waren in den Anzuchtschalen nur ganz vereinzelte Sporenkeimungen festzustellen. Der Grund hierfür konnte nur darin liegen, daß diese Schalen, im Gegensatz zu den üblichen Versuchen, während dieser acht Wochen nicht geöffnet und abgelesen wurden. Es kam entweder mangelnde Sauerstoffversorgung, die — wie RABIEN (37) mitteilt — die Keimung des gewöhnlichen Steinbrandes stark beeinflussen kann, als Ursache in Frage, oder aber der Zwergsteinbrand benötigt zu seiner Keimung eine gewisse Belichtung.

Ein Vorversuch, bei dem alle Versuche gleicher Belichtung ausgesetzt waren, jedoch einmal die Versuchsschalen mit Paraffin verschlossen und erst bei Versuchsende geöffnet wurden, zum andern die Schalen wöchentlich geöffnet und abgelesen wurden, ergab keinerlei Unterschiede in der Keimung bei beiden Reihen. In einem zweiten Vorversuch wurden Keimschalen mit Zwergsteinbrand (Herkunft 1950 und 1952) entweder bei absoluter Dunkelheit oder bei relativer Dunkelheit (einige Stunden Belichtung in jeder Woche) aufgestellt. Bei Versuchsende nach 53 Tagen war sowohl bei den

Sporen der Ernte 1950 wie auch bei der Ernte 1952 in absoluter Dunkelheit keine Keimung erfolgt, während relative Dunkelheit bei beiden Herkünften Keimung von 0,8 ergab.

Über die Lichtabhängigkeit der Sporenkeimung des Zwergsteinbrandes wurde inzwischen auch von GASSNER (14) sowie von BÖNING, WAGNER und v. MINCKWITZ (4) und RÖDER (42) berichtet. Unsere eigenen Untersuchungen in dieser Richtung wurden ab Frühjahr 1953 nach Erstellung der nötigen technischen Einrichtungen auf breiter Basis fortgeführt.

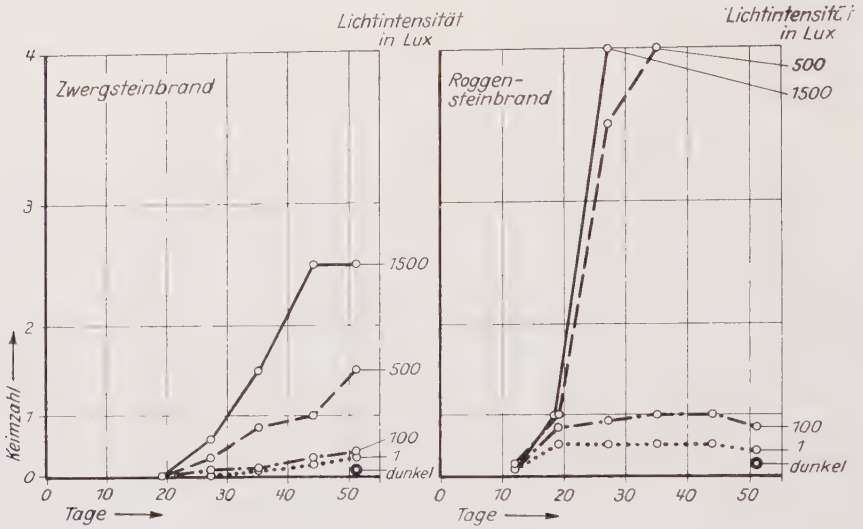


Abb. 5. Sporenkeimung bei Dauerbelichtung mit verschiedener Lichtintensität. Sporen: Zwergsteinbrand 1952. Roggensteinbrand 1952. Aufstellung bei + 5 °C

Der in Abb. 5 (linke Darstellung) wiedergegebene Versuch zeigt die Abhängigkeit der Zwergsteinbrandkeimung von der Lichtintensität. Die Versuchsschalen waren im Kühlraum in verschiedenem Abstand von der Lichtquelle aufgestellt. Die höchste hierbei zur Verfügung stehende Lichtintensität von 1500 Lux erreicht bei weitem noch nicht die normalerweise im Freiland herrschende Beleuchtungsstärke, gibt doch LANDOLD-BÖRNSTEIN (24, S. 700) für klaren, fast wolkenlosen Himmel bei einer Sonnenhöhe von 5° eine Gesamtstrahlung von 5000 Lux, für 45° Sonnenhöhe 66 000 Lux an. 1500 Lux liegen größenordnungsmäßig noch unter der an trüben Tagen bei geringer Sonnenhöhe herrschenden Belichtung. Es ist daher anzunehmen, daß durch höhere Beleuchtungsintensität die Keimung der Zwergsteinbrandsporen noch weiter zu fördern ist.

2. Roggensteinbrand. In ähnlicher Weise wie beim Zwergsteinbrand konnte für den Roggensteinbrand in einem Vorversuch eine Förderung der Sporenkeimung durch Belichtung nachgewiesen werden. Nach neueren Berichten gelang es auch PICHLER (35) den Roggensteinbrand durch Belichtung zur Keimung zu bringen.

Abb. 5 (rechte Darstellung) zeigt die Keimung der Roggensteinbrandsporen bei verschiedener Lichtintensität. Verglichen mit dem Zwergsteinbrand keimt der Roggensteinbrand schneller: Keimbeginn nach 12 Tagen, höchste Keimung nach 19 bis 35 Tagen; während beim Zwergsteinbrand die ersten Keimungen erst nach 27 Tagen beobachtet wurden. Der Roggensteinbrand (Ernte 1953) stellt dabei im ganzen geringere Ansprüche an die Lichtintensität, da bereits bei 500 Lux die höchste Keimzahl 4 erreicht wird.

3. Gewöhnlicher Steinbrand. Riehm (39), Hahne (15), Rabien (37) und Gassner (12) weisen darauf hin, daß die Keimung der Sporen des gewöhnlichen Steinbrandes durch Belichtung gefördert wird. Besonders stark soll sich nach Hahne diese Förderung bei tiefen Temperaturen auswirken. Wie er anführt, keimt frisch geerntetes Sporenmaterial auch ohne Belichtung sehr gut; bei älteren Sporen nimmt die Lichtabhängigkeit der Keimung mit dem Sporenalter stark zu.

In eigenen Vorversuchen wurden verschiedene Herkünfte des gewöhnlichen Steinbrandes auf ihr Lichtbedürfnis geprüft. Es wurden sowohl Sporen der Ernte 1950 und 1952 — also bei der Durchführung der Versuche drei bzw. ein Jahr alt — wie frisch geerntete Sporen der Ernte 1953 verwendet. Bei allen Herkünften war die Keimung bei + 3 °C in absoluter Dunkelheit (nach 12 bis 16 Tagen) mit Keimzahlen von 1 bis 2,5 wesentlich schwächer als nach Aufstellung am Licht (Keimzahl 3,5 bis 4). Abb. 6 zeigt die Keimung in einer bei absoluter Dunkelheit und einer am Licht (1500 Lux) aufgestellten Keimschale.

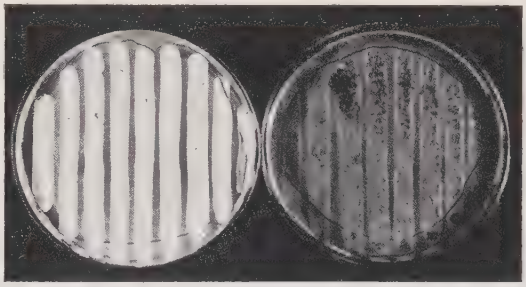


Abb. 6. Keimung der Sporen des gewöhnlichen Steinbrandes am Licht und bei Dunkelheit. Sporen: Herkunft 1952; Aufstellung 16 Tage bei + 3 °C; links: im Dauerlicht 1500 Lux; rechts: bei absoluter Dunkelheit

B. Belichtungsdauer

1. Zwergsteinbrand. In der Natur erfolgt die Belichtung der Sporen nur tagsüber. Es war daher noch die Wirkung verschieden langer täglicher Belichtung zu untersuchen. Die Keimschalen waren hierzu bei

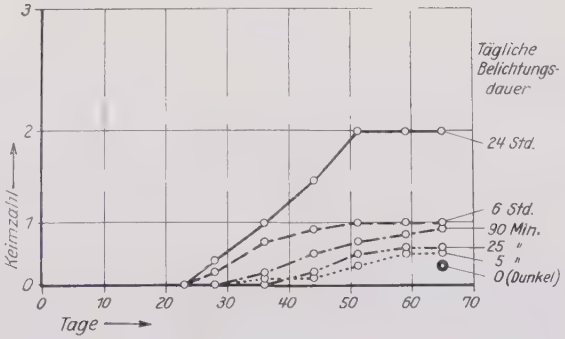


Abb. 7. Keimung der Zwergsteinbrandsporen bei verschiedener Dauer der täglichen Belichtung. Sporen: Herkunft 1952. Aufstellung bei + 5 °C. Belichtung mit 1000 Lux

+ 5° C aufgestellt und jeden Tag verschieden lange einer Belichtung von 1000 Lux ausgesetzt, die übrige Zeit in Blechdosen verdunkelt. Beim Zwergsteinbrand (Abb. 7) beginnt die Keimung nach 28 Tagen und erreicht nach 51 bis 65 Tagen ihren Höchstwert. Bei der zur Verfügung stehenden unteroptimalen Lichtintensität von 1000 Lux setzt jede Verkürzung der Belichtungsdauer die Steinbrandkeimung stark herab.

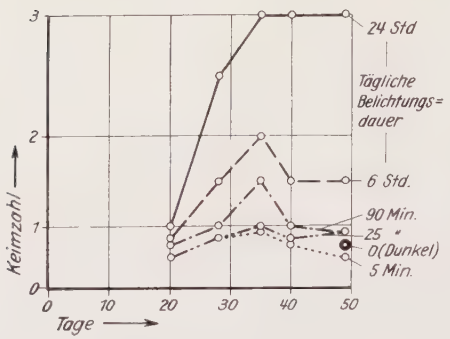


Abb. 8. Keimung der Roggensteinbrandsporen bei verschiedener Dauer der täglichen Belichtung. Sporen: Herkunft 1953. Aufstellung bei + 5° C. Belichtung mit 1000 Lux

2. Roggensteinbrand. Beim Roggensteinbrand (Abb. 8) zeigt sich gleichfalls, daß die Stärke der Keimung mit der Belichtungsdauer zunimmt. Im ganzen stellt auch hier der Rogensteinbrand geringere Ansprüche an die Belichtung als der Zwergsteinbrand.

3. Gewöhnlicher Steinbrand. Auch bei diesem hängt die Keimung von der täglichen Dauer der Belichtung ab (Abb. 9), und zwar sowohl bei tiefer (+ 3°) wie bei hoher Temperatur (+ 20°). Bei der hohen Temperatur tritt diese Keimungsförderung deshalb nicht so stark in Erscheinung, weil der Unterschied in der Keimzahl der belichtet und unbelichtet aufgestellten Sporen sowieso nur gering ist und die Keimzahl bei hoher Temperatur infolge Auflösung der Sporidien bald wieder zurückgeht. Bei den bei tiefer Temperatur aufgestellten Keimschalen zeigt sich, daß der Unterschied zwischen der Keimung der bei Dunkelheit und der bei Licht aufgestellten Sporen nur wenige Tage zu erkennen bleibt; daß Belichtung die Keimung also nur beschleunigt. Nach 16 Tagen ist die Keimung hier bei hell und dunkel aufgestellten Versuchen überall gleich stark (Keimzahl 4).

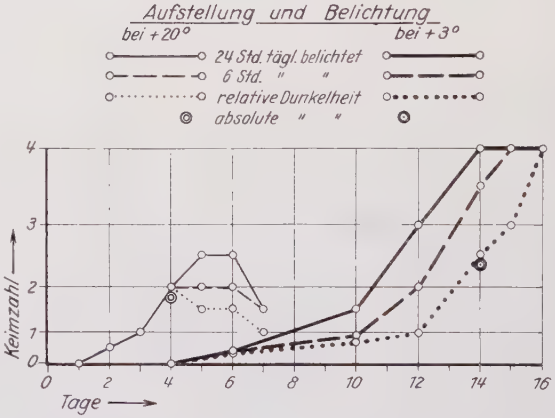


Abb. 9. Keimung der Sporen des gewöhnlichen Steinbrandes bei verschiedener Dauer der täglichen Belichtung. Sporen: Herkunft 1953. Belichtung mit 1500 Lux

C. Zeitpunkt der Belichtung

1. Zwergsteinbrand. Für die Samen von *Lythrum salicaria*, die in ihrer Keimung durch Licht gefördert werden, ist bekannt (TILLY 44),

daß Belichtung erst nach einer gewissen Sensibilisierung der Samen ihre volle Wirkung zu entfalten vermag. Belichtung unmittelbar nach dem Auslegen der Samen ins Keimbett bewirkt nur geringe Förderung der Keimung. Die Lichtwirkung hängt demnach hier stark vom Zeitpunkt der Einwirkung ab.

Auch für den Zwergsteinbrand (Ernte 1952) konnte in unseren Untersuchungen solch eine wechselnde Lichtempfindlichkeit nachgewiesen werden (Abb. 10). Die Keimschalen mit den Sporenausstrichen waren für diesen Versuch bei + 5° C aufgestellt. Wird zu verschiedener Zeit zwei Wochen durchgehend mit einer Lichtintensität von 1500 Lux belichtet, die andere Zeit bei Dunkelheit aufgestellt, so läßt sich die stärkste Keimungsförderung dann erreichen, wenn die Belichtung während der fünften und sechsten Woche nach dem Ausstreichen geboten wird.

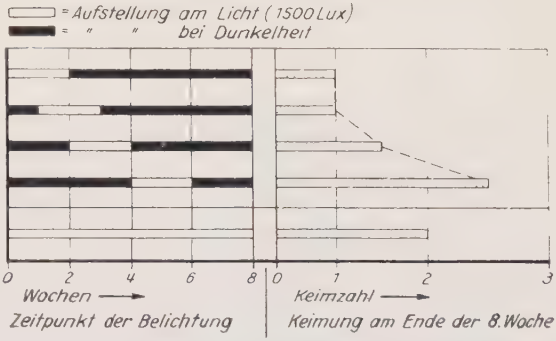


Abb. 10. Wirkung einer Belichtung von zwei Wochen Dauer auf die Keimung des Zwergsteinbrandes. Sporen: Herkunft 1952. Aufstellung bei + 5° C

Die schwache Keimung in den Keimschalen, die während der ersten Wochen nach dem Ausstreichen belichtet wurden, ist nicht etwa darauf zurückzuführen, daß die Keimung vorher stärker war, bis zum Zeitpunkt der Ablesung (acht Wochen nach Versuchsbeginn) aber bereits wieder zurückgegangen ist. Das ergab sich eindeutig aus einem Parallelversuch, bei dem nach der Belichtung wöchentlich einmal abgelesen wurde, die Aufstellung bis zum Versuchsende also bei relativer Dunkelheit und nicht, wie in dem hier angeführten Versuch, bei absoluter Dunkelheit erfolgte. Es muß daher aus dem Versuch gefolgert werden, daß die Zwergsteinbrandsporen im Anfang, kurz nach dem Ausstreichen, nur eine geringe Lichtempfindlichkeit besitzen, durch Licht also nur wenig in der Keimung zu fördern sind. Die Lichtempfindlichkeit nimmt dann bis zur fünften Woche dauernd zu, so daß Belichtung nach dieser Zeit am günstigsten wirkt.

Dieser Versuch wurde mit ein Jahr alten Sporen der Ernte 1952 durchgeführt. Daß auch frisches Sporenmaterial (Ernte 1953) eine solche Sensibilisierung durchmachen muß, zeigt Abb. 11. Hier wurde jeweils nur eine Woche zu verschiedener Zeit belichtet. Die Keimung ist um so stärker, je später die Belichtung geboten wird. Nach Abschluß der dritten Woche etwa dürfte bei dieser Sporenherkunft volle Lichtempfindlichkeit erreicht sein. Auffallend ist, daß die Keimung bei den erst in der sechsten bzw. siebenten Woche belichteten Schalen zur Zeit der ersten Ablesung (nach neun Wochen) geringer ist als bei den in der vierten oder fünften Woche belichteten Keimschalen. Werden die Schalen noch weitere zwei Wochen bei Dunkelheit stehengelassen und dann nochmals abgelesen (zweite Ablesung), so sind auch die erst in der

sechsten oder siebenten Woche belichteten Sporen stark gekeimt. Es bedarf demnach im Anschluß an die Belichtung einer gewissen Zeit, während der die Sporen auch verdunkelt aufgestellt werden können, bis die durch das Licht induzierte Keimung äußerlich zu erkennen ist. Nur die ersten, die Keimung auslösenden Prozesse können daher lichtabhängig sein, nicht aber die eigentliche Keimung bzw. Sporidienbildung, die auch bei Dunkelheit erfolgt.

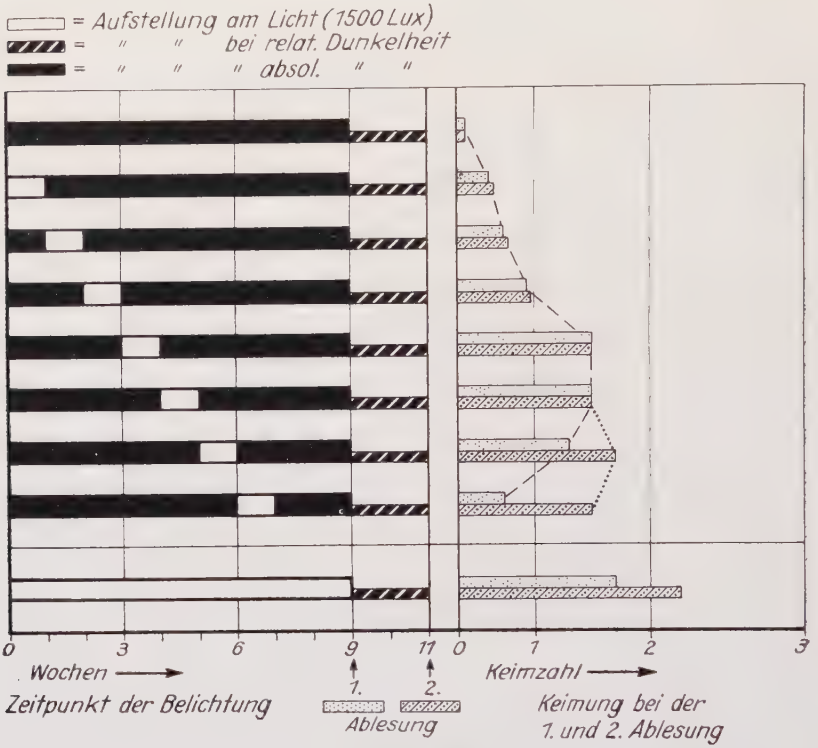


Abb. 11. Wirkung einer Belichtung von einer Woche Dauer auf die Keimung des Zwergsteinbrandes. Sporen: Herkunft 1953. Aufstellung bei + 3 °C. Mittel aus drei Versuchsschalen

Diese Frage wurde in einem weiteren Versuch näher untersucht (Abb. 12). Zwergsteinbrandsporen wurden je drei Wochen belichtet, und zwar im Versuch a) und b) von der ersten bis zur dritten Woche, im Versuch c) und d) von der vierten bis sechsten Woche. Anschließend wurde jeweils die Kontrolle a) bzw. c) bei absoluter Dunkelheit aufgestellt, die anderen Schalen b) und d) wurden weitere drei Wochen ganztägig belichtet. Versuch e) ist eine im Dauerlicht aufgestellte Kontrolle. Aus Versuch b) ergibt sich, daß zusätzliche Belichtung über die ersten drei Wochen hinaus die Keimung gegenüber der Kontrolle (Versuch a) etwas fördert. In Versuch d) ist bei zusätzlicher Beleuchtung die Keimung gegenüber der Kontrolle (c) herabgesetzt, sofern nach neun Wochen, also sofort im Anschluß an die Belichtung abgelesen wird.

Werden die Schalen anschließend weitere zwei Wochen bei Dunkelheit stehengelassen und dann noch einmal abgelesen, so ist die Keimung in den zusätzlich belichteten Keimschalen (d) um ein geringes höher als in der Kontrolle (c).

Dies läßt sich nur so erklären, daß nach Abschluß der Sensibilisierungsvorgänge eine Auslösung der eigentlichen Keimprozesse nur am Licht erfolgen kann. Die Wirksamkeit der Belichtung nimmt dabei mit ihrer Dauer zu.

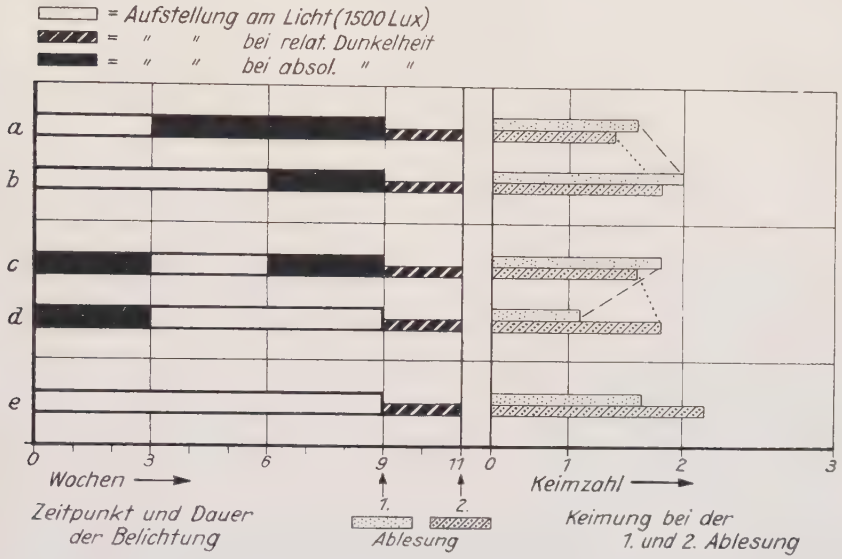


Abb. 12. Wirkung einer verschieden langen Belichtung auf die Keimung der Zwergsteinbrandsporen. Versuchsbedingungen wie bei Abb. 11

Die folgenden Keimungsabschnitte sind nicht nur unabhängig von der Belichtung, sondern sie werden sogar etwas durch Licht gehemmt. Die Wirkung einer Belichtung kommt daher nur voll zur Auswirkung, wenn daran anschließend einige Zeit Aufstellung bei Dunkelheit erfolgt. Auch in dem Versuch der Abb. 10 und mehreren anderen, hier nicht angeführten Wiederholungen kam diese Erscheinung bereits zum Ausdruck, da eine Belichtung von zwei Wochen Dauer, geboten während der fünften und sechsten Woche, mit anschließender Aufstellung bei Dunkelheit stärkere Keimung hervorruft, als sie durch Dauerbelichtung (acht Wochen Dauer) ohne anschließende Dunkelaufstellung erreicht werden konnte.

2. Roggensteinbrand. Untersuchungen mit einwöchiger Belichtung zu verschiedener Zeit ergaben für Roggensteinbrand (Ernte 1953) ein anderes Verhalten als beim Zwergsteinbrand. Die Sporen haben hier bereits in der ersten Woche nach dem Ausstreichen eine hohe Lichtempfindlichkeit. Etwas stärker als Belichtung in der ersten Woche wirkte allerdings auch hier eine erst in der zweiten Woche gebotene Belichtung. Eine Begünsti-

gung der Keimung durch Dunkelaufstellung im Anschluß an die Belichtung war nicht bzw. nicht mit Sicherheit festzustellen. Beim Roggensteinbrand ist demnach der Zeitpunkt der Belichtung nur von untergeordneter Bedeutung.

D. Wirkung der Belichtung bei verschiedener Temperatur

1. Zwergsteinbrand. Für die im Herbst auf die Bodenoberfläche gelangten Sporen muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß bereits frühzeitig, bevor keimwirksame Temperatur eintritt, durch die Bodenbearbeitung die Steinbrandsporen in den Boden eingebracht werden, eine Belichtung während einer Periode mit keimwirksamer Temperatur daher nicht mehr erfolgen kann. Kann eine Belichtung bei keimunwirksamer Temperatur nun noch nachwirken? Kann also durch diese vorherige Belichtung auch später in Dunkelheit noch eine Keimung ausgelöst werden?

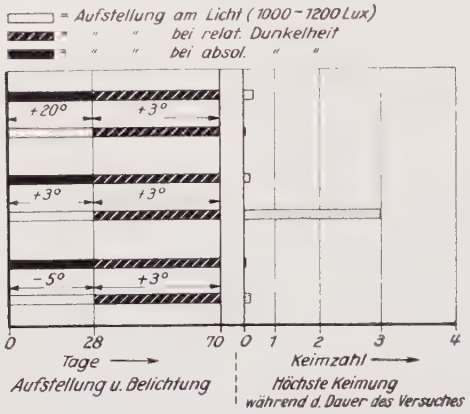


Abb. 13. Lichtwirkung auf die Zwergsteinbrandkeimung bei verschiedener Temperatur. Sporen: Herkunft 1952

Zur Beantwortung dieser Frage wurden Zwergsteinbrandsporen erst vier Wochen bei verschiedener Temperatur am Licht oder bei Dunkelheit vorkultiviert, dann alle Versuche auf + 3° C in Dunkelheit umgestellt (Abb. 13). Nur die bei keimwirksamer Temperatur von + 3° gebotene Belichtung vermag hierbei die Keimung gegenüber der bei Dunkelheit aufgestellten Kontrolle wesentlich zu fördern. Eine Belichtung während der Vorkultur bei — 5° oder + 20° ist unwirksam.

Zwischen Tag und Nacht tritt im Herbst neben dem Beleuchtungswechsel ein Wechsel der Temperatur auf. Normalerweise fallen hierbei tiefe Temperatur mit Dunkelheit und höhere Temperatur mit Belichtung zusammen. Wie bereits angeführt wurde (S. 374), ist bei einem Wechsel von 6 Std. + 20° auf 18 Std. + 3° auch bei Dauerbelichtung keine Keimung zu erzielen. Es blieb noch die Zusammenstellung: 6 Std. — 5° auf 18 Std. + 3° zu prüfen (Abb. 14, oben), wobei das Licht entweder nur während der täglichen Aufstellung bei + 3° (keimwirksame Temperatur) oder nur bei — 5° (keimunwirksame Temperatur) geboten wurde. Die Kontrollen waren dauernd hell (a) bzw. dauernd bei Dunkelheit (d) aufgestellt. Nur in den Versuchen, bei denen während der Aufstellung bei + 3° belichtet wurde (a und b), ist eine Sporenkeimung zu beobachten. Belichtung während der Aufstellung bei Frosttemperatur (c) blieb wirkungslos.

2. Roggensteinbrand. Bezüglich der Abhängigkeit der Lichtwirkung von der Temperatur besteht beim Roggensteinbrand, wie Abb. 15

zeigt, kein Unterschied gegenüber dem Zwergsteinbrand. Nur die Belichtung vermag die Keimung zu fördern, die während der Aufstellung bei keimwirksamer Temperatur von + 3 ° C einwirkt. Belichtung bei + 20 ° oder − 5 ° ist wirkungslos.

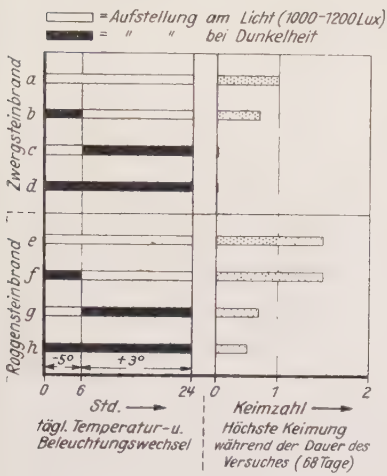


Abb. 14. Lichtwirkung auf die Steinbrandkeimung bei täglich intermittierender Temperatur. Sporen: Zwergsteinbrand 1952, Roggensteinbrand 1953

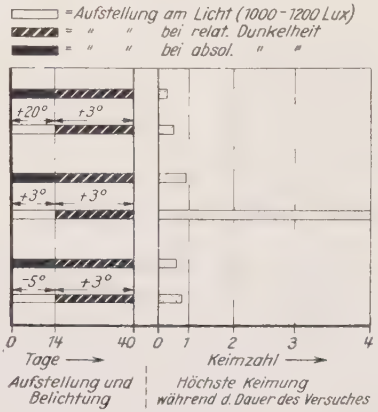


Abb. 15. Lichtwirkung auf die Roggensteinbrandkeimung bei verschiedener Temperatur. Sporen: Herkunft 1953

Ein Gleiches gilt für die Belichtung bei täglich intermittierender Temperatur (Abb. 14, unten). Nach Belichtung während der 18stündigen täglichen Aufstellung bei + 3 ° C (f) wird Keimung in gleicher Höhe wie in der dauernd belichteteten Kontrolle (e) erreicht. Belichtung nur während der Aufstellung bei — 5 ° (g) ruft nur eine geringfügige Förderung gegenüber den ständig in Dunkelheit aufgestellten Keimschalen (h) hervor. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Sporen beim täglichen Umstellen von + 3 ° auf — 5 ° nicht sofort die neue, tiefere Temperatur annehmen, während der Lichtwechsel augenblicklich erfolgt. Das Licht wirkt daher auch im Fall des Versuches g täglich kurzfristig auf Sporen ein, deren Temperatur höher als — 5 ° ist.

VI. Vergleichende Betrachtung des Keimverhaltens

Beim Zwerg- und Roggensteinbrand ließen sich im Ablauf des Keimungsvorgangs auf Grund unterschiedlicher Temperatur- und Lichtansprüche verschiedene Teilabschnitte festlegen. Beim gewöhnlichen Steinbrand stellt sich der Keimungsvorgang als verhältnismäßig einheitlicher Prozeß dar.

Soweit sich auf Grund der durchgeführten Untersuchungen Aussagen machen lassen, sind die Temperatur- und Lichtansprüche der einzelnen Keimabschnitte sowie deren ungefähre Dauer für die drei Steinbrandarten in

nachfolgender Übersicht (Abb. 16) zusammengestellt. Eine solche Übersicht muß notwendigerweise etwas schematisieren, da die Dauer der einzelnen Abschnitte von Spore zu Spore stark schwankt. Die eingetragenen Werte können somit nur als Anhalt dienen.

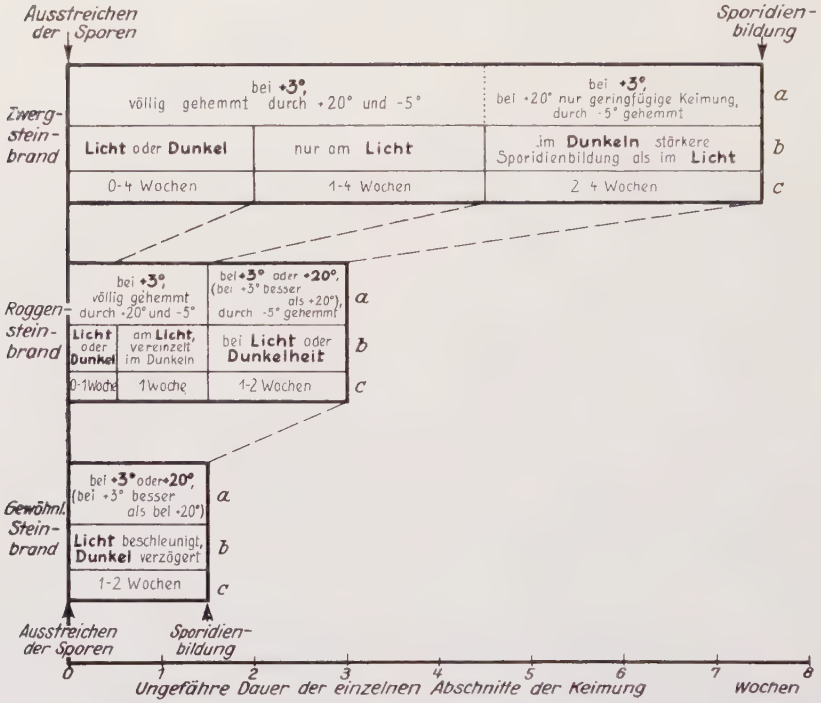


Abb. 16. Zusammenfassende Übersicht über die Licht- und Temperaturansprüche der einzelnen Abschnitte der Steinbrandkeimung.

a) = Temperaturabhängigkeit
b) = Lichtabhängigkeit
c) = ungefähre Dauer in Wochen
} der Keimungsabschnitte

Die **fette Schrift** kennzeichnet die Bedingungen, die zum Ablauf der Keimungsprozesse erforderlich sind.

Ein Vergleich ergibt zwischen Zwergsteinbrand und gewöhnlichem Steinbrand beträchtliche Unterschiede. Der Roggensteinbrand steht in keimungsphysiologischer Hinsicht zwischen beiden, ähnelt jedoch etwas mehr dem Zwergsteinbrand.

Bezüglich der Keimungstemperatur (obere Darstellung in Abb. 16, a) ist der Zwergsteinbrand fast völlig auf tiefere Temperaturen angewiesen. Er ist stenotherm. Lediglich im letzten Keimungsabschnitt ist er etwas weniger empfindlich. gegenüber hohen Temperaturen, denn einzelne Sporen ertragen zu dieser Zeit längere Einwirkung einer Temperatur von + 20°, ohne daß die ablaufenden

Keimungsvorgänge zum Erliegen kommen. Der gewöhnliche Steinbrand (untere Darstellung, a) muß als eurytherm bezeichnet werden, da starke Keimung sowohl bei + 3° wie bei + 20° zu erreichen ist. Etwas günstiger wirken aber auch hier die tieferen Keimungstemperaturen, so daß das Optimum gleichfalls um + 5° C liegt.

Der Roggensteinbrand (mittlere Darstellung, a) nimmt eine Zwischenstellung ein. Die erste Phase der Keimung ist wie beim Zwergsteinbrand an einen engbegrenzten Temperaturbereich von + 3° C (maximal + 10°) angepaßt. Während des letzten Keimungsabschnitts kann auch höhere Temperatur geboten werden, die allerdings, wenn auch nicht in demselben Ausmaß wie beim Zwergsteinbrand, eine gewisse hemmende Wirkung auf die Keimung bzw. Sporidienbildung ausübt. Bei dieser Art kann die eigentliche Keimung auch noch bei + 20° erfolgen, wenn nur vorher eine gewisse Zeit — länger als acht Tage — keimwirksame Temperatur einwirken konnte, so daß die Keimungsprozesse eingeleitet wurden.

Eine weitere Unterteilung des Keimungsvorganges ist beim Zwergsteinbrand auf Grund der unterschiedlichen Lichtempfindlichkeit der aufeinanderfolgenden Keimabschnitte möglich. Nach einer gewissen Zeit der Sensibilisierung — etwa ein bis vier Wochen — wird ein lichtempfindlicher Zustand erreicht. Belichtung nach dieser Zeit wirkt daher am stärksten keimungsauslösend. Der letzte Abschnitt der Keimung wird durch Dunkelaufstellung etwas gefördert. Beim Roggensteinbrand ist diese wechselnde Lichtempfindlichkeit wohl andeutungsweise noch zu erkennen, jedoch nicht so ausgeprägt wie beim Zwergsteinbrand. Die höchsten Ansprüche an die Belichtung stellt der Zwergsteinbrand, bei dem im Dunkeln nur ganz vereinzelte Sporen keimen. Roggensteinbrand benötigt zur Auslösung stärkerer Keimung zwar auch eine Belichtung, jedoch ist bereits durch sehr viel geringere Lichtintensitäten und Belichtungszeiten als beim Zwergsteinbrand volle Keimung zu erzielen. Ein geringer Prozentsatz der Sporen keimt bei ihm bereits in absoluter Dunkelheit. Beim gewöhnlichen Steinbrand wirkt das Licht lediglich keimungsbeschleunigend, da auch in absoluter Dunkelheit, wenn auch verzögert, maximale Keimung zu erreichen ist. Eine sich im Verlauf der Keimung ändernde Lichtempfindlichkeit war hier nicht mehr festzustellen.

Von allen drei Arten keimt der Zwergsteinbrand am langsamsten, braucht er doch — wie sich nach Summierung der für die einzelnen Abschnitte angegebenen Zeiten ergibt — bis zum Keimungsbeginn drei bis vier, bis zur vollen Keimung sieben bis zwölf Wochen. Beim Roggensteinbrand ist mit einer Keimdauer von zwei bis vier Wochen, beim gewöhnlichen Steinbrand mit ein bis zwei Wochen zu rechnen. Diese Werte gelten nur für eine Keimungstemperatur von + 3° C und Belichtungsstärken von 1000 bis 1500 Lux. Für andere Keimungsbedingungen dürften sie sich etwas ändern. So wird z. B. die Keimung des gewöhnlichen Steinbrandes durch höhere Temperatur stark beschleunigt. Besonders muß auch darauf hingewiesen werden, daß die zur Verfügung stehenden Beleuchtungsstärken nur einen Bruchteil der im Freiland auftretenden Lichtintensitäten ausmachen.

VII. Biologie und Verbreitung in Abhängigkeit vom Keimverhalten

Voraussetzung für das Zustandekommen einer Steinbrandinfektion ist in jedem Fall das Zusammentreffen infektionsfähiger Stadien des Parasiten mit empfänglichen Stadien des Wirtes. Infektionsstadien des Pilzes in diesem Sinne sind die Sporidien bzw. das aus deren Fusionsprodukt hervorgehende Infektionsmyzel. Der Vorgang, der zur Bildung der Sporidien führt, wurde in der vorliegenden Arbeit als „Keimung" der Sporen bezeichnet. Es sollen im folgenden die Faktoren besprochen werden, welche auf seiten des Pilzes das Zustandekommen der Infektion beeinflussen, während die den Wirt betreffenden Fragen einer späteren Arbeit vorbehalten bleiben.

Die Unterschiede im Keimverhalten sind der Hauptgrund für die unterschiedliche Infektionsart von gewöhnlichem Steinbrand einerseits und Zwergsowie Roggensteinbrand andrerseits.

Durch die schnelle Keimung, seine geringen Lichtansprüche und die Anpassung an höhere Temperaturen ist der gewöhnliche Steinbrand unter normalen Aussaat- und Witterungsbedingungen bei Saatgutübertragung in der Lage, rechtzeitig, bevor der Getreidekeimling ihm entwächst, Infektionsstadien auszubilden. Belichtung spielt bei ihm nur eine untergeordnete Rolle, da auch bei Dunkelheit — wenn auch etwas verzögert — Keimung erfolgt. Durch die relative Unempfindlichkeit des gewöhnlichen Steinbrandes in bezug auf die Temperatur kann auch eine etwas höhere Temperatur zur Saatzeit Infektionen nicht völlig verhindern. Von HECKE (16), RABIEN (37) und BONNE (3) wird bereits hervorgehoben, daß die stärksten Infektionen bei mittleren Temperaturen zu erreichen sind. Anscheinend sind hier die Keimung der Steinbrandsporen und die Entwicklung des Wirtes besonders gut aufeinander abgestimmt.

Anders liegen die Verhältnisse beim Zwergsteinbrand und Roggensteinbrand. Saatgutübertragung führt bei diesen beiden nur selten zu Infektionen, da nach Einbringen des Saatgutes in die Erde den Sporen das zur Auslösung der Keimung nötige Licht fehlt. Hierauf hat besonders GASSNER (14) hingewiesen. Daneben dürfte auch die unterschiedliche Einwirkung höherer Temperaturen auf den Parasiten, dessen Sporenkeimung verhindert wird, und den Wirt, dessen Entwicklung beschleunigt wird, für das Versagen der Saatgutinfektion eine Rolle spielen. Für diese beiden Formen kommt daher vorwiegend Übertragung durch Bodeninfektion in Frage.

Die Sporen gelangen hierbei nach der Ernte bzw. beim Drusch auf den Boden. Zu dieser Zeit (August bis Anfang September) ist im allgemeinen die Temperatur an der Bodenoberfläche noch so hoch, daß keine Keimung eingeleitet werden kann. Erst nachdem die Temperaturen an der Bodenoberfläche für einige Zeit keimgünstige Werte mit einem Tagesmittel unter + 10 °C erreichen — in den Befallsgebieten Süddeutschlands etwa Mitte September (nach „Klimakunde des Deutschen Reiches" 40) —, kann die Keimung unter der fördernden Wirkung des Lichtes eingeleitet werden und, bei

weiterer keimgünstiger Temperatur, für Roggensteinbrand etwa nach 12 bis 17 Tagen, für Zwergsteinbrand nach 22 bis 26 Tagen zur Sporidienbildung führen. Im allgemeinen dürften somit ab Anfang Oktober[1]) infektionsfähige Stadien des Parasiten im Boden vorliegen, zu einer Zeit also, wo bei früher Saat auch bereits empfängliche Stadien des Wirtes vorhanden sein können.

Bisher wird ein Auftreten von Zwergsteinbrand in Europa nur für Süddeutschland und Österreich (Wagner 48, Warmbrunn 49, Pichler 34), von Roggensteinbrand nur für Böhmen, Schlesien, Bulgarien, Rußland, die Schweiz und Österreich (Bubák 5, Buchheim 6, Pichler 33, Malkoff 29, Volkart 46) gemeldet. Vergleicht man aber das Klima dieser Gebiete mit dem normalen Temperaturverlauf des Herbstes in anderen Teilen Deutschlands, so ist die Möglichkeit nicht von vornherein auszuschließen, daß eventuell noch eine weitere Ausbreitung, besonders in die deutschen Ostgebiete und die höher gelegenen Teile Mitteldeutschlands erfolgen könnte. Daß dies bisher noch nicht geschah, ist möglicherweise nur eine Folge der durch die Bodenübertragung bedingten langsameren Ausbreitung. Wie sich außereuropäische Zwerg- und Roggensteinbrandherkünfte in dieser Hinsicht verhalten, läßt sich nicht sagen, da uns nicht bekannt ist, ob diese im Keimverhalten dem von uns verwendeten Material gleichen.

Der Ablauf der Sporenkeimung unter natürlichen Verhältnissen kann durch mancherlei Faktoren verändert werden. So ist je nach der Pflanzenbedeckung des Ackers im Herbst (Unterfrucht, Unkraut) die Lichtintensität an der Bodenoberfläche verschieden; dadurch kann die Sporenkeimung stark beeinflußt werden.

Wie die Untersuchungen zeigten, ist die Sporenkeimung gerade in ihrem ersten Abschnitt stark durch kurzfristige Einwirkung höherer Temperatur zu hemmen. Wenn während eines längeren Zeitabschnitts an klaren Tagen die Temperatur an der Bodenoberfläche infolge Sonneneinstrahlung tagsüber stark ansteigt, so wird trotz tiefer Nachttemperaturen die Sporenkeimung noch nicht eingeleitet werden können. Sind hingegen die ersten Keimungsprozesse in den Sporen bereits durchlaufen, so kann auch eine Periode mit etwas höherer Temperatur die Keimung und Sporidienbildung — vor allem beim Roggensteinbrand — nicht mehr völlig verhindern.

Da gerade diese Umweltfaktoren von Jahr zu Jahr und von Ort zu Ort stark variieren, ist es verständlich, daß Roggensteinbrand und Zwergsteinbrand ein derart schwankendes Auftreten zeigen. Hinzu kommt, daß auch durch eine Verschiebung der Aussaatzeit des Getreides die Infektionsbedingungen verändert werden können. So wird von seiten der Praxis hervorgehoben, daß der Zwergsteinbrand besonders stark nach früher Aussaat auftritt.

Völlig ungeklärt ist die Wirkung der Bodenbearbeitung auf das Auftreten dieser beiden Krankheiten. In unseren Untersuchungen konnte gezeigt

1) Dies stimmt mit entsprechenden Untersuchungen von Böning, Wagner und v. Minckwitz (4) überein, die bei Freilandversuchen mit Zwergsteinbrandsporen gleichfalls Anfang Oktober die ersten Keimungen beobachteten.

werden, daß nur eine solche Belichtung Sporenkeimungen auszulösen vermag, die zugleich mit keimwirksamer Temperatur geboten wird. Zum andern war es jedoch nicht nötig, daß die Belichtung bis zum Abschluß der Keimung (Sporidienbildung) erfolgte, da dieser letzte Keimabschnitt nicht lichtabhängig ist. Eine einmal erfolgte Belichtung wirkt demnach auch bei anschließender Dunkelheit noch nach. Für die Verhältnise in der Natur könnte dies folgendes bedeuten: Eine Bodenbearbeitung, die v o r Einsetzen keimgünstiger Temperatur (etwa Ende August bis Anfang September) die Sporen tief genug in den Boden einbringt, so daß n a c h Einsetzen tieferer Temperaturen kein Licht mehr einwirken kann, müßte die Keimung und so den Zwerg- bzw. Roggensteinbrandbefall herabsetzen können. Ein Einbringen der Sporen in den Boden durch eine Bodenbearbeitung einige Zeit n a c h Einsetzen keimgünstiger Temperatur dürfte hingegen keine Wirkung mehr haben, da das Licht hier bereits vorher induzierend einwirken konnte, und auch bei späterer Dunkelheit die Keimung erfolgt. Es ist also nicht unbedingt nötig, daß die Infektion der Keimlinge nur an der B o d e n o b e r f l ä c h e erfolgt, sondern auch die schon einige Zeit vorher durch die Bodenbearbeitung — bzw. bei der Aussaat — von der Bodenoberfläche i n den Boden gebrachten Sporen können unter der Nachwirkung des Lichtes dort keimen und den Keimling infizieren.

Die hier angestellten Überlegungen umfassen die im Herbst frisch in den Boden eingebrachten Sporen. HOLTON, BAMBERG und WOODWARD (19), PICHLER (33), und BÖNING, WAGNER und v. MINCKWITZ (4) geben an, daß diese Sporen zum Teil mehrere Jahre im Boden ausdauern können, bevor sie zur Keimung kommen. Solche überjährigen Sporen, über deren Keimungsbedingungen (Licht, Temperatur) nichts bekannt ist, können natürlich das gegebene Bild unter Umständen sehr verändern. Es wäre daher erwünscht, auch für ältere, unter verschiedenen Bedingungen aufbewahrte Sporen das Keimverhalten zu prüfen.

VIII. Zusammenfassung

(Vergl. auch Abb. 16)

1. Die Untersuchungen behandeln die Licht- und Temperaturabhängigkeit der Sporenkeimung des Weizenzwergsteinbrandes, Roggensteinbrandes und gewöhnlichen Steinbrandes.

2. Die ungefähre Lage der Kardinalpunkte der Keimungstemperatur, bezogen auf die Stärke der Sporidienbildung, gibt nachfolgende Übersicht:

	Minimum	Optimum	Maximum
Zwergsteinbrand	$< +2^0$ C	$+3^0$ bis $+5^0$ C	etwa $+10^0$ C
Roggensteinbrand	$< +2^0$ C	$+3^0$ bis $+5^0$ C	etwa $+10^0$ C
Gewöhnlicher Steinbrand . .	$< +2^0$ C	etwa $+5^0$ C	$> +24^0$ C

Vorstehende Angaben über die Keimungstemperatur gelten nur, wenn man die Keimung als einen einheitlichen Vorgang betrachtet. Beim Roggen-

steinbrand, in geringerem Maße auch beim Zwergsteinbrand, unterscheiden sich jedoch die aufeinanderfolgenden Abschnitte der Sporenkeimung etwas in ihren Ansprüchen an die Temperatur.

3. Tägliche kurzfristige Einwirkung höherer Temperatur verhindert beim Zwergsteinbrand und Roggensteinbrand die Keimung vollständig. Einwirkung von Frosttemperatur wirkt nicht im gleichen Maße hemmend wie hohe Temperatur.

4. Bei allen drei Steinbrandarten wird die Keimung durch Belichtung gefördert. Die höchsten Ansprüche an die Belichtung stellt der Zwergsteinbrand, der ohne Licht nur spurenweise Keimung ergibt. Die geringste Lichtabhängigkeit zeigt der gewöhnliche Steinbrand, bei dem Belichtung die Keimung nur etwas beschleunigt. Die fördernde Wirkung des Lichtes nimmt bei allen drei Arten mit der Belichtungs d a u e r , beim näher untersuchten Zwerg- und Roggensteinbrand auch mit der Licht i n t e n s i t ä t stark zu.

5. Das Licht kann bei Zwerg- und Roggensteinbrand nur keimungsauslösend wirken, wenn es zugleich mit keimwirksamer Temperatur geboten wird.

6. Der Zwergsteinbrand, und in sehr viel geringerem Maße auch der Roggensteinbrand, benötigen eine gewisse Zeit der Sensibilisierung, bevor sie volle Lichtempfindlichkeit erlangen. Der letzte Abschnitt der Keimung bedarf bei diesen Arten keiner Belichtung. Die Sporidienbildung erfolgt daher auch bei voller Dunkelheit, sofern nur einige Zeit vorher ausreichende Belichtung geboten wurde.

7. Allgemein nimmt der Roggensteinbrand in keimungsphysiologischer Hinsicht eine Mittelstellung zwischen Zwergsteinbrand und gewöhnlichem Steinbrand ein, wobei er allerdings dem Zwergsteinbrand etwas näher steht.

Literaturverzeichnis

1. Bamberg, R. H.: Bacteria antibiotic to *Ustilago zeae*. Phytopathology **XXI**, 9: 881—890 (1931).

2. Blodgett, E. C.: The dwarf bunt disease of wheat in Idaho in 1943. U. S. Dept. Agr. Pl. Dis. Rept. **28**: 785—789 (1944).

3. Bonne, C.: Untersuchungen über den Steinbrand des Weizens. Angew. Botanik **XIII**: 169—209 (1931).

4. Böning, K., Wagner, F. und v. Minckwitz, A.: Untersuchungen zur Keimungsbiologie und Beizung der Sporen des Zwergsteinbrandes an Weizen. Z. Pfl.Bau u. Pfl.Schutz **4**, 2: 49—71 (1953).

5. Bubák, F.: Die Pilze Böhmens; II. Teil, Brandpilze (*Hemibasidii*). Arch. d. Naturw. Landesdurchforschg. v. Böhmen (Prag 1916). Zitiert nach Zillig (51).

6. Buchheim, A.: Phytopathologische Forschung und Schädlingsbekämpfung in Rußland. Angew. Botanik **VIII**: 1—8 (1926).

7. CHURCHWARD, J. G.: The initiation of infection by bunt of wheat (*Tilletia caries*). Ann. appl. Biol. **27**: 58—64 (1940).

8. COHN, F.: Über die in Schlesien im Getreide beobachteten Brandpilze. Jahresbericht d. Schles. Ges. f. Vaterländ. Kultur **54**: 135 (1876). Zitiert nach VOLKART (46).

9. FEUCHT, W.: Die Wirkung des Steinbrandes *Tilletia tritici* (Bjerkander) Winter und *Tilletia foetens* (Berkely et Curtis) Tulasne auf verschiedene Winterweizensorten bei künstlicher Infektion in ihrer Abhängigkeit von äußeren Faktoren. Phytopath. Z. **4**, 3: 247—290 (1932).

10. FISCHER, W. G.: *Tilletia brevifaciens* sp. nov., causing dwarf bunt of wheat and certain grasses. Res. Stud. State Coll. of Wash. **XX**, 1: 11—14 (1952).

11. FLOR, H. H.: Heterothalism and hybridization in *Tilletia tritici* and *T. levis*. J. of Agric. Res. **44**: 49—58 (1932).

12. GASSNER, G.: Untersuchungen über Keimgeschwindigkeit und Infektionsvermögen verschiedener Stämme von *Tilletia foetens* und *Tilletia tritici*. Phytopath. Z. **11**, 5: 489—516 (1938).

13. — — und RABIEN, H.: Untersuchungen über die Bedeutung von Beiztemperatur und Beizdauer für die Wirkung verschiedener Beizmittel. Arb. a. d. Biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtsch. **14**, 3: 367—410 (1925).

14. GASSNER-Höchst, G. G.: Untersuchungen über Keimungsbedingungen und Bekämpfungsmöglichkeiten beim Zwergsteinbrand (*Tilletia brevifaciens*) im Laboratorium. Phythopath. Z. **21**, 1: 53—62 (1953).

15. HAHNE, J.: Untersuchungen über Keimungsbedingungen von *Tilletia*-Sporen. Dissertation Halle (1923).

16. HECKE, L.: Der Einfluß von Sorte und Temperatur auf den Steinbrandbefall. Z. f. Landw. Versuchswesen in Österreich **12**: 49—66 (1909).

17. HOLTON, C. S.: Preliminary investigations on dwarf bunt of wheat. Phytopathology **XXXI**: 74—82 (1941).

18. — —: Chlamydospore germination in the fungus causing dwarf bunt of wheat. Phytopathology **XXXIII**, 8: 732—735 (1943).

19. — —, BAMBERG, R. H. and WOODWARD, R. W.: Progress in the study of dwarf bunt of winter wheat in the pacific northwest. Phytopathology **XXXIX**, 12: 986—1000 (1949).

20. — — and HEALD, F. D.: Studies on the control and other aspects of bunt of wheat. Wash. Agr. Exp. Stat. Bull. **339**: 22—23 (1936).

21. — — and SUNESON, C. A.: Wheat varietal reaction to dwarf bunt in the western wheat region of the United States. J. Americ. Soc. of Agronomy **35**, 7: 579—583 (1943).

22. JACZEWSKI, A. DE: Sur le développement menaçant du *Tilletia secalis* Kühn en Russie pendant les dernières années. Report of the internat. conference of Phytopath. etc., Wageningen 267 (1923). Zitiert nach VOLKART (46).

23. JOHNSON, D. E.: The antibiosis of certain bacteria to smuts and some other fungi. Phytopathology **XXI**: 843—863 (1931).

24. LANDOLT, H. und BÖRNSTEIN, R.: Zahlenwerte und Funktionen aus Physik, Chemie, Astronomie, Geophysik und Technik. Band III, 6. Aufl., Berlin, Göttingen, Heidelberg (1952).

25. Lang, W.: Die Bedeutung der Temperatur beim Beizen. Nachrichtenbl. f. d. deutschen Pflanzenschutzd. (1925). Zitiert nach Gassner und Rabien (13).

26. Lobik, V. J. und Dahlstrem, A. F.: Verbesserung der Keimmethoden von Weizenbrandsporen im Laboratorium. Ref. in Rev. of appl. Mycol. **XV**, 12: 786 (1936).

27. Lowther, C. V.: Low temperature as a factor in the germination of dwarf bunt chlamydospores. Phytopathology **XXXVIII**: 309—310 (1948).

28. — —: Chlamydospore germination in physiologic races of *Tilletia caries* and *Tilletia foetida*. Phytopathology **XL**, 6: 590—603 (1950).

29. Malkoff, K.: Erster Beitrag zur Kenntnis der Pilzflora Bulgariens. Ann. Mycologici **6**: 29 (1908). Zitiert nach Volkart (46).

30. Malmus, N.: Zur Bekämpfung des Weizensteinbrandes. Wochenbl. d. Land. Bauernschaft Bayreuth **4**: 771—772 (1942). Zitiert nach Wagner (48).

31. Niessl, G. v.: Über das Vorkommen von *Tilletia secalis* J. Kühn. Hedwigia **XV**: 161 (1876).

32. Olgyay, M. v.: Untersuchungen über das Keimen und die Infektionsverhältnisse der Steinbrandsporen (*Tilletia foetens* und *tritici*). Botanikai Közlemények **XXXII** (1935).

33. Pichler, F.: Über Roggensteinbrand (*Tilletia tritici f. sp. secalis*). Pflanzenschutzberichte **V**, 5/6: 273—286 (1950).

34. — —: Zwergsteinbrand auch in Österreich. Der Pflanzenarzt **4**, 11: 4 (1951).

35. — —: Zur Frage der Keimung von Roggen- und Zwergsteinbrandsporen. Pflanzenschutzberichte **XI**, 1/2: 12—17 (1953).

36. Rabenhorst, L.: *Uredo secalis* Rabenhorst, der eigentliche Roggenbrand, eine neue Pilzart. Flora **XXXII**: 209 (1849).

37. Rabien, H.: Über Keimungs- und Infektionsbedingungen von *Tilletia tritici*. Arb. Biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtsch. **XV**, 3: 297—353 (1927).

38. Rademacher, R.: Krankheiten und Schädlinge im Acker- und Feldgemüsebau. Stuttgart (1949).

39. Riehm, E.: Über die Keimungs- und Infektionsbedingungen der Sporen von *Tilletia tritici*. Mitlg. d. Biol Reichsanst. **18**: 20 (1920).

40. Reichsamt für Wetterdienst: Klimakunde des Deutschen Reiches. Berlin (1939).

41. Rodenhiser, H. A. and Holton, C. S.: Distribution of races of *Tilletia caries* and *Tilletia foetida* and their relative virulence on certain varieties and selections of wheat. Phytopathology **XXXV**: 955—969 (1945).

42. Röder, K.: Über eine Infektionsmethode und die Bekämpfung des Weizen-Zwergsteinbrandes (*Tilletia tritici nanifica* = *Tilletia brevifaciens*). Nachrichtenbl. d. dt. Pflanzenschutzd. **5**: 9 (1953).

43. Schroeter, J.: Pilze *Ustilaginaceae* in Cohn: Kryptogamenflora von Schlesien **3**: 266—291, Breslau (1889). Zitiert nach Zillig (51).

44. Tilly, F.: Über die Sensibilisierung und Desensibilisierung lichtempfindlicher Samen (*Lythrum salicaria* L.). Z. f. Bot. **28**: 401—445 (1934/35).

45. Tyler, L. J.: Dwarf bunt of winter wheat in New York. U. S. Dept. Agric. Pl. Dis. Rep. **29**: 668—669 (1949).

46. Volkart, A.: Der Roggensteinbrand (*Tilletia secalis* [Corda] Kcke.). Berichte Schweiz. Bot. Ges. **49**: 495—503 (1939).

47. Wagner, F.: Über das Auftreten von Zwergsteinbrand in Bayern. Pflanzenschutz **1** (1948).

48. — —: Auftreten, Sporenkeimung und Infektion des Zwergsteinbrandes an Weizen. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz **1**, 1: 1—14 (1950).

49. Warmbrunn, K.: Untersuchungen über den Zwergsteinbrand. Phytopath. Z. **19**: 441—482 (1952).

50. Young, P. A.: An new variety of *Tilletia tritici* in Montana. Phytopathology **XXV**, 1: 40 (1935).

51. Zillig, H.: Ustilaginales in Sorauer, Handb. d. Pflanzenkrh. **III**, 5. Aufl. (1932).

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Bakteriologie und Serologie, Braunschweig-Gliesmarode

Serologische Untersuchungen über das Verhalten des Kartoffel-A-Virus in Tabakpflanzen

Von

R. Bartels

Mit 3 Abbildungen

Einleitung

Eine Grundbedingung für die Herstellung von Antiseren zur Diagnose pflanzlicher Virosen ist u. a. das Vorhandensein einer möglichst hohen Viruskonzentration in der Wirtspflanze. Nur unter dieser Voraussetzung wird die Verarbeitung virushaltigen Pflanzenmaterials zum gewünschten Erfolg, einem hochtitrigen Antiserum, führen, vor allem wenn das Antigen gereinigt und angereichert werden soll. Für das empfindliche Kartoffel-A-Virus gilt dieses in besonderem Maße.

Obwohl über die A-Viruskonzentration in der Kartoffel wenig bekannt ist, scheidet diese selbst als Wirtspflanze für den oben genannten Zweck von vornherein aus, weil hier die Virusreinigung auf Schwierigkeiten stößt. Anders dagegen liegen die Verhältnisse beim Tabak, auf dem sich das A-Virus — wie die meisten anderen Kartoffelviren — gut kultivieren und aus dem es sich verhältnismäßig einfach gewinnen läßt.

Als „Dauerkultur"-Pflanze wird im allgemeinen die Varietät White Burley verwendet; die Sorte Samsun ist wegen der nicht immer deutlich sichtbaren Folgesymptome weniger geeignet. Außerdem stellte Köhler bei Versuchen mit A-Virus an der letzteren Sorte bereits 1937 fest, daß Infektionen nicht so regelmäßig gelingen, „wenn zum Einreiben nicht Saft von Kartoffellaub, sondern Saft von Samsunpflanzen verwendet wird. Dies hängt augenscheinlich damit zusammen, daß das Virus auf unserer Tabakrasse allmählich inaktiviert wird. Das Virus läßt sich auf dieser nicht wie viele andere Kartoffelmosaikviren beliebig oft nachimpfen. Aus diesem Grunde ist die Sorte als Testsorte in der Regel auch nur bei unmittelbarer Abimpfung von der Kartoffel brauchbar. Bei Übertragung von Samsun auf Samsun kommt zudem die Aufhellung der Nerven oft nicht mehr deutlich zum Vorschein; gleichfalls ein Zeugnis eingetretener Schwächung" (5, S. 24).

Trotz dieses Nachteils dürfte aber der Samsuntabak als Wirtspflanze zur Gewinnung von Seren gut geeignet sein, weil das A-Virus in ihm nach einer mündlichen Mitteilung von Köhler zeitweilig eine höhere Konzentration als in White Burley erreichen soll. Näheres ist jedoch nicht bekannt.

Es mußten daher systematische Untersuchungen vorgenommen werden, die nicht nur über die Virusverseuchung und -konzentration, sondern auch über den zeitlichen Verlauf der „Schwächung" in Pflanzen verschiedener Altersstufen Aufschluß geben sollten. Est nach Klärung dieser Fragen war es möglich, den für die Antigen-Aufbereitung günstigsten Zeitpunkt zur Serumgewinnung zu ermitteln.

Methodik

Nach Übertragung eines Virus auf eine Wirtspflanze benötigt das infektiöse Agens eine mehr oder weniger große Zeitspanne, um sich im beimpften Blatt zu vermehren und in die weiteren Blätter vorzudringen. Nach einer gewissen Zeit läßt sich das Virus schnell und einfach mit Hilfe der serologischen Methode nachweisen. Auch ist eine quantitative Virusbestimmung auf serologischem Wege bis zu einem gewissen Grade möglich. Für die vorliegenden Untersuchungen wurde daher die zum Nachweis des Kartoffel-X-Virus entwickelte serologische Blättchenmethode [STAPP und BERCKS (9)] in analoger Weise mit einem an Papier angetrockneten A-Antiserum verwendet.

Eine größere Anzahl von Samsun- bzw. White Burley-Pflanzen wurde im Vierblatt-Stadium mit dem A-Virusstamm P 716/12 (KÖHLER) beimpft, und jeweils zwei von ihnen wurden in siebentägigem Abstand in qualitativer und quantitativer Hinsicht auf A-Virus untersucht. Da die Pflanzen in der ersten Woche nach der Beimpfung erfahrungsgemäß noch nicht so stark vom Virus durchsetzt sind, erfolgten die ersten Prüfungen neun Tage nach der Infektion und erst die weiteren in wöchentlichem Turnus.

Zur jeweiligen Analyse wurden zwei möglichst gleichgroße Pflanzen mit annähernd gleicher Blattanzahl ausgewählt, von jedem ihrer Blätter Preßsäfte mit Handpreßzangen hergestellt und diese gegen das Antiserum getestet. Fiel die Reaktion positiv aus, wurde der Titer des Saftes bestimmt, d. h. diese Probe wurde in steigender Verdünnungsreihe gegen eine gleichbleibende Serumdosis geprüft. Jene Stufe, bei der ein eben noch erkennbares Präzipitat festgestellt werden konnte, wurde als Virus-Titer des entsprechenden Tabakblattes bezeichnet. Auf diese Weise gewannen wir einen Überblick über den Infektionsverlauf und erhielten zugleich eine Relativzahl für die Viruskonzentration im einzelnen Blatt.

Bei der Durchführung der Analysen mußte die Tatsache berücksichtigt werden, daß das A-Virus bei längerem Verbleib *in vitro* verhältnismäßig schnell inaktiv wird und auch serologisch nicht mehr nachzuweisen ist. Infolge des Arbeitsaufwandes ließ sich besonders bei größeren Pflanzen ein Stehenlassen der Preßsäfte nicht vermeiden; sie wurden innerhalb kurzer Zeit trübe und konnten für die Titerbestimmungen nicht mehr gebraucht werden. Eine erneute Klärung derselben Probe durch nochmaliges Zentrifugieren wirkte sich jedoch nachteilig auf den Titer aus. Daher wurden zwei z e i t l i c h g e t r e n n t gewonnene Säfte aus je einer Blatt h ä l f t e verwendet, von denen die erste für den qualitativen, die zweite für den quantitativen Test benutzt wurde.

Untersuchungsergebnisse

A. Versuche mit Samsuntabak

Die erste Versuchsserie umfaßte 50 Pflanzen, die am 24. Oktober 1951 beimpft und bis zur 21. Woche nach der Infektion (19. März 1952) in einwöchigem Abstand untersucht wurden. Die Mittelwerte der Analysen sind in Tabelle 1 zusammengestellt, während in Abb. 1 drei aufschlußreiche Zahlenreihen aus der Tabelle (Gesamtanzahl der Blätter, Anzahl der erkrankten Blätter und Titersumme sämtlicher Blätter) graphisch dargestellt worden sind.

Tabelle 1

Übersicht über das Untersuchungsergebnis von A-virusinfizierten Samsunpflanzen, deren Blätter im Laufe von 21 Wochen in jeweils einwöchigem Abstand auf ihre Viruskonzentration geprüft wurden.

Die Tabelle gibt Durchschnittswerte von jeweils zwei Pflanzen an. (Nähere Angaben im Text)
Infektionsdatum: 24. Oktober 1951. Letzte Untersuchung: 19. März 1952.

Wochen nach der Infektion	Anzahl der Blätter		Anteil der kranken Blätter an der Gesamtblattanzahl	Titer-		
	insgesamt*)	krank*)		Summe sämtlicher Blätter*)	Maximum einer Pflanze (einzelne Blätter)	Durchschnitt der gesamten Pflanze
1	6,0	2,0	33 %	9,0	6	1,5
2	7,0	4,0	57 %	20,0	8	2,9
3	9,0	6,0	67 %	43,0	12	4,8
4	10,0	7,5	75 %	32,0	8	3,2
5	11,0	8,5	77 %	31,5	8	2,9
6	12,0	11,5	96 %	102,5	24	8,5
7	12,0	10,0	83 %	79,0	24	6,6
8	12,5	10,0	80 %	45,0	10	3,6
9	13,5	9,5	70 %	64,0	26	4,7
10	14,5	10,6	72 %	37,0	8	2,6
11	16,5	10,0	61 %	54,5	12	3,3
12	17,0	11,0	65 %	60,5	16	3,6
13	20,0	13,5	68 %	81,0	12	4,1
14	22,5	14,0	62 %	87,5	16	3,8
15	26,5	11,5	43 %	93,0	32	3,5
16	27,5	15,5	56 %	137,5	32	5,0
17	31,5	13,5	43 %	111,5	24	3,5
18	30,0	14,5	48 %	83,5	16	2,8
19	31,5	10,5	33 %	40,5	8	1,3
20	30,5	3,0	10 %	4,0	1,5	0,1
21	26,0	0,0	0 %	0,0	0	0,0

*) Diese Werte sind in Abb. 1 graphisch dargestellt worden.

1. Gesamtzahl der Blätter

Im Verlauf der Wachstumsperiode nahm die Blattanzahl (GB) bis zur 17. Woche nach der Infektion gleichmäßig zu, obwohl die beiden unteren künstlich infizierten Blätter und die unmittelbar darüber befindlichen bereits von der 13. Woche an chlorotisch wurden und abstarben. Diese Verringerung der Blattanzahl ist jedoch aus der Kurve in Abb. 1 nicht abzulesen, weil fortlaufend neue Blätter gebildet wurden. Erst in der 17. Woche hörte der Blatt-

zuwachs am Hauptsproß infolge der Blütenknospenentwicklung auf. Zu diesem Zeitpunkt machten sich eine fortschreitende Abreife (Chlorose) und ein daran anschließendes, verhältnismäßig schnelles Vertrocknen der Blätter von unten nach oben in stärkerem Maße bemerkbar. Hierdurch fällt die GB-Kurve in Abb. 1 gegen Versuchsende ab.

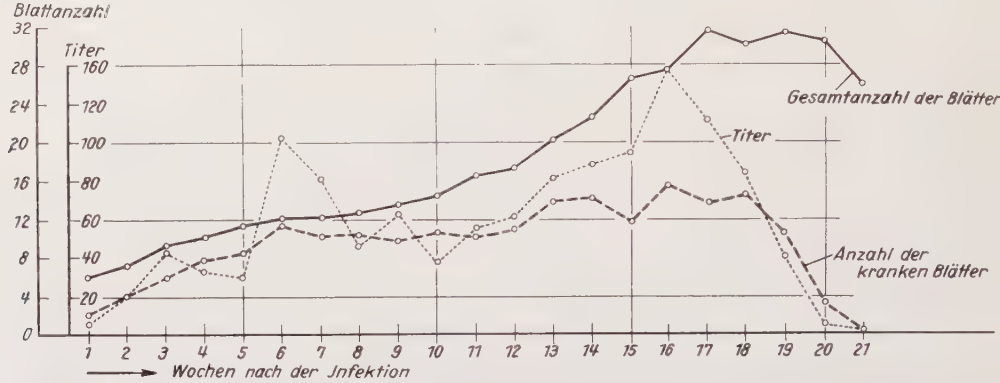


Abb. 1. Graphische Darstellung der Analysenwerte aus Tabelle 1 von Samsuntabakpflanzen. Die mit „Titer" bezeichnete Kurve stellt die jeweilige Höhe der Summe der Einzelblattiter als Mittelwert aus zwei Pflanzen dar

2. Anzahl der kranken Blätter

Bis zur sechsten Woche nach der Beimpfung nahm die Anzahl der kranken Blätter (KB) ungefähr parallel zu GB gleichmäßig zu, danach vergrößerte sie sich bis zur 18. Woche kaum noch und — auf GB zu dieser Zeit bezogen — ging KB sogar zurück. Ihre Kurve in Abb. 1 verläuft daher nach einem ersten Anstieg fast waagerecht. Auf Einzelheiten dieser Erscheinung wird weiter unten eingegangen. — Von der 19. Woche ab war das Virus nur noch bei wenigen Blättern bzw. überhaupt nicht mehr serologisch nachzuweisen, obwohl bei Versuchsende keineswegs sämtliche Blätter abgereift waren. Dementsprechend sinkt die Kurve in der letzten Woche auf die Nullinie ab.

3. Virustiter

Wie aus Abb. 1 ersichtlich ist, bestehen zwischen den Kurven des Virustiters und der KB nur wenige Beziehungen. Anfangs schwankt die Titerkurve, zwischen der 5. und 8. Woche hat sie einen ersten Gipfelpunkt (Wert 102,5; siehe Tabelle 1, Spalte 5) und fällt danach wieder ab. Nach weiteren Schwankungen verläuft sie fast parallel zur GB-Kurve, d. h. die Viruskonzentration der gesamten Pflanze steigt an, obwohl sich die Anzahl der kranken Blätter nicht wesentlich vergrößert. In der 16. Woche zeigt die Kurve einen zweiten Gipfel (Wert 137,5), um sodann genau wie die KB-Kurve schnell abzusinken und am Versuchsende den Nullpunkt zu erreichen.

Aus diesem Befund könnte gefolgert werden, daß der für die Serumherstellung günstigste Zeitpunkt in jene Woche fällt, in der das Maximum des Gesamttiters 137,5 betrug. Bei dieser Überlegung ist jedoch das Verhältnis von KB zu GB nicht berücksichtigt, das für die Viruskonzentration des aus

einer ganzen Pflanze gewonnenen Preßsaftes von ausschlaggebender Bedeutung ist (siehe Tabelle 1, Spalte 4). Angenommen, die Blätter würden zu diesem Zeitpunkt geerntet, so wäre in fast der Hälfte des Materials kein serologisch meßbares Virus enthalten; denn das Verhältnis KB/GB betrug nur 56 %.

Vor der Antigenaufbereitung eine Prüfung einzelner Blätter auf ihren Virusgehalt vorzunehmen, kommt wegen des zu großen Aufwandes nicht in Betracht. Es ist auch nicht möglich, virushaltige bzw. virusarme oder -freie Blätter nach dem Symptombild auszuwählen, weil die Symptome an A-viruskranken Samsunpflanzen nur in den ersten Wochen nach der Beimpfung ausgeprägt sind; später werden sie schwach und können infolge der Wirkung ökologischer Faktoren vollständig verschwinden. Die Verwertung sämtlicher Blätter einer kranken Pflanze ist daher immer am zweckmäßigsten.

Unter Berücksichtigung des oben Gesagten ist die sechste Woche mit dem ersten Titermaximum als bester Erntezeitpunkt anzusehen, weil hier 96 % der gesamten Blätter virusverseucht waren. Einen derart günstigen Wert erreichte der Quotient KB/GB in den weiteren Versuchswochen nicht wieder.

In der letzten Spalte von Tabelle 1 sind die rechnerisch ermittelten Durchschnittstiter der gesamten Pflanze zusammengestellt worden, d. h. diejenigen Werte, die die Preßsäfte aus sämtlichen Blättern annähernd haben würden. Auch hier lag das Maximum eindeutig in der sechsten Woche. Dabei war es unwesentlich, daß einzelne Blätter (Spalte 6) in der 15. und 16. Woche einen höheren Virusgehalt aufwiesen als in den vorhergehenden Wochen; denn ihre hohe Viruskonzentration wurde durch die Vermischung mit zahlreichen weniger Virus enthaltenden Preßsäften bei der Ernte sämtlicher Blätter herabgesetzt. Maßgebend für eine gute Antigenausbeute ist allein der Durchschnittstiter sämtlicher Blätter.

4. Verhalten des Virus im einzelnen Blatt

Wie schon unter Ziffer 2 gesagt, drang das Virus während der ersten Untersuchungswochen in fast alle vorhandenen Blätter ein, später aber vergrößerte sich die Anzahl der kranken Blätter nicht mehr, sondern nahm trotz des Zuwachses weiterer Blätter sogar ab. Da aus der KB-Kurve (Abb. 1) das Verhalten des Virus im einzelnen Blatt nicht hervorgeht, sind aus den 21 Doppelanalysen sechs zu verschiedenen Zeitpunkten gewonnene Werte (6, 9, 12, 15, 18 und 20 Wochen nach der Infektion) ausgewählt und in Abb. 2 graphisch dargestellt worden. Die Ordinate gibt die Titerwerte, die Abszisse die Blattnummern in fortlaufender Reihenfolge wieder. Infolge des in der 13. Woche einsetzenden Absterbens der unteren Blätter beginnen die Kurven der 15., 18. und 20. Woche nicht beim künstlich infizierten Blatt Nr. 1, sondern beim jeweils vorhandenen untersten Blatt.

Die Kurvenbilder zeigen deutlich, daß die Viruskonzentration in allen Blättern einer Pflanze ungleich war, von unten nach oben zunahm und in den Spitzenblättern wieder absank. Die größte Virusmenge wurde stets in den voll ausgewachsenen Blättern (bei einer Länge von 15 bis 16 cm) unterhalb der Sproßspitze gefunden, während die oberen zwei noch im Wachstum be-

findlichen Blätter von jungen Pflanzen (bzw. vier bis fünf von älteren) weniger Virus enthielten.

In der neunten Woche nach der Beimpfung ließ sich das Virus in den unteren fünf Blättern nicht mehr serologisch nachweisen, obwohl noch keine Abreiferscheinungen aufgetreten waren. Mit zunehmendem Alter der Wirtspflanzen vergrößerte sich die Anzahl dieser anscheinend virusfreien Blätter immer mehr, und am Kurvenbild der 20. Woche ist abzulesen, daß hier das Virus nur noch in sehr geringer Konzentration (Titer 1 : 1) in drei Blättern vorhanden war. Das starke Absinken des Virusspiegels begann bereits in der 17. Woche (s. a. Abb. 1), in der die Blütenknospenbildung mit nachfolgender Chlorose der unteren Blätter einsetzte.

Ein Vergleich der Viruskonzentrationen bestimmter Blätter von Pflanzen verschiedenen Alters läßt erkennen, daß der Virusgehalt in jungen

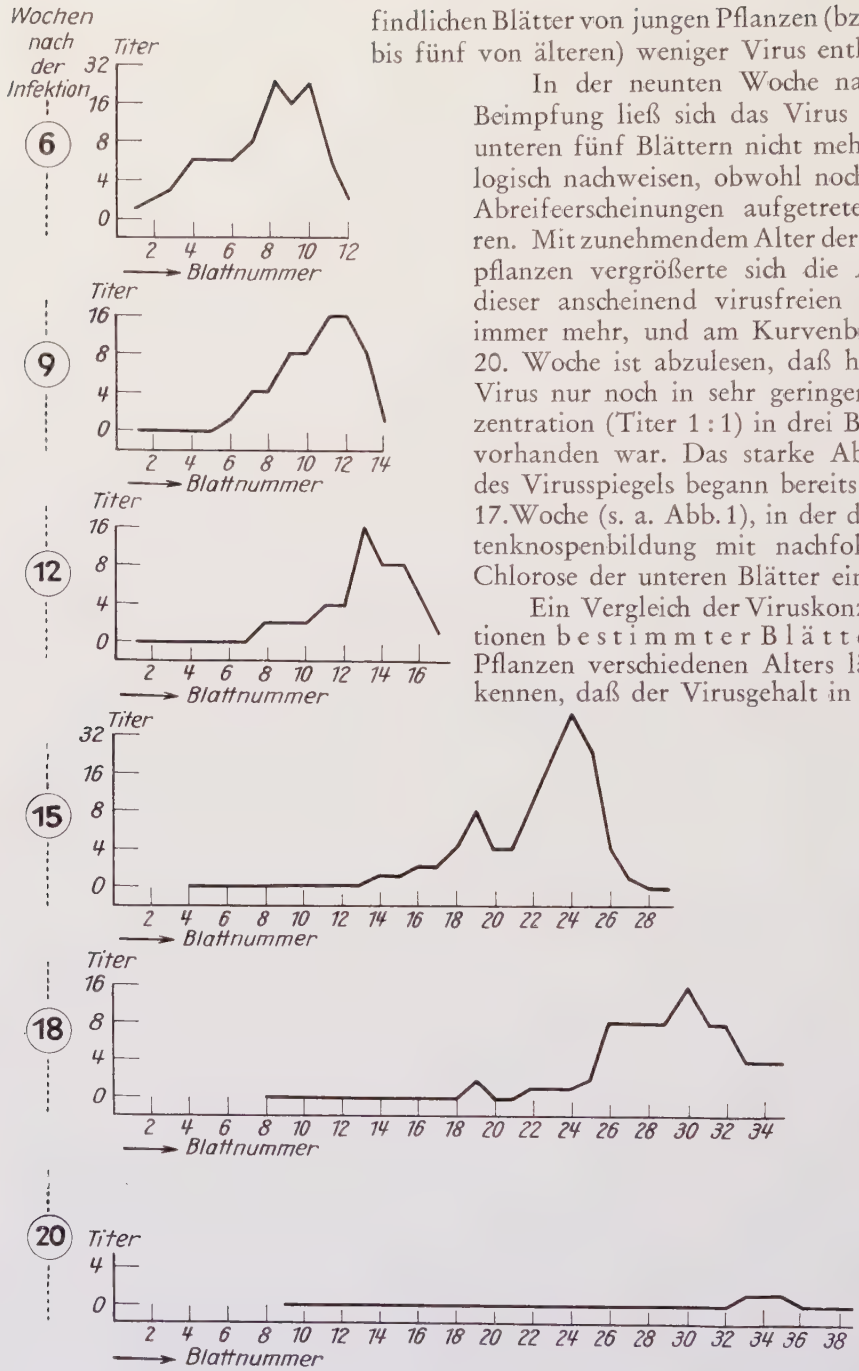


Abb. 2. Graphische Darstellung der A-Viruskonzentration einzelner Blätter jeweils einer Samsunpflanze 6, 9, 12, 15, 18 und 20 Wochen nach der Infektion. Die Blatt-Numerierung beginnt beim unteren künstlich infizierten Blatt

Pflanzen bereits drei Wochen nach Erreichen des Höchstwertes auf den halben Wert gesunken war und nach weiteren drei Wochen fast den Nullpunkt erreicht hatte. So betrug z. B. in Blatt Nr. 9 der Virustiter sechs Wochen nach der Infektion 1 : 16, drei Wochen später fanden wir im vergleichbaren Blatt einer anderen Pflanze einen Titer von 1 : 8 und nach weiteren drei Wochen, also zwölf Wochen nach der Beimpfung, nur noch einen Titer von 1 : 2. — Bei älteren Pflanzen dagegen ließ die serologische Aktivität des Virus noch schneller nach. Als Beispiel sei das Blatt Nr. 13 der zwölften Woche mit dem Titer 1 : 16 (Maximum der gesamten Pflanze) hervorgehoben; schon drei Wochen später war das Virus im entsprechenden Blatt einer anderen Pflanze serologisch nicht mehr nachzuweisen. Die gleiche Tendenz wurde auch in der 15. und 18. Woche bei den das Titermaximum enthaltenden Blättern beobachtet.

B. Wiederholungen und weitere Versuche mit White Burley-Tabak

Der unter A geschilderte Versuch wurde im Sommer 1952 mit ebenfalls 50 Samsunpflanzen wiederholt, jedoch nicht fünf Monate lang überwacht, sondern bereits sechs Wochen nach der Beimpfung abgebrochen. Zwar hatten die ersten Prüfungen ein normales Ergebnis gebracht, d. h. das Virus hatte die Pflanzen infiziert und sich wie üblich in den neugebildeten Blättern ausgebreitet, aber von der vierten Woche ab waren die serologischen Reaktionen negativ. Mehrfache Nachprüfungen mit weiteren Pflanzen derselben Versuchsserie zeigten jeweils das gleiche Resultat. Für den negativen Ausfall des Versuches sind vermutlich die während der dritten und vierten Woche im Gewächshaus herrschenden ungewöhnlich hohen Temperaturen verantwortlich zu machen. Der Durchschnitt der Tagesmaxima betrug 35,8 ° C; außerdem blieben Temperaturen von über 30 ° C bis zu fünf Stunden lang bestehen.

Parallel zu diesem Versuch vorgenommene Infektionen an White Burley-Tabak zeigten ein nicht so eindeutiges Ergebnis. Zwar war das Virus ebenfalls in der vierten und fünften Woche nach der Beimpfung trotz guter Symptombildung auf serologischem Wege nicht mehr nachzuweisen, in den darauffolgenden Wochen gelang der Test jedoch ohne Schwierigkeiten. Da aber diese Pflanzen unter außergewöhnlichen Bedingungen aufgewachsen waren, wurden die Analysen nicht fortgesetzt.

Eine weitere Versuchsserie, die von September bis Dezember 1952 sowohl mit Samsun- als auch mit White Burley-Tabak durchgeführt wurde, erbrachte bei Samsunpflanzen hinsichtlich des Infektionsverlaufes ein ähnliches Resultat wie im Winter 1951/52. Wiederum verliefen die Kurven der Anzahl der kranken Blätter und der Gesamtblattanzahl nicht parallel, und die Titerkurve wies gleichfalls zwei Maxima auf; das erste lag in der fünften Woche, das zweite in der zwölften Woche. Gegenüber dem ersten Versuch war das zweite Maximum um vier Wochen verschoben, doch zeigte das für die Antigenaufbereitung wichtige Verhältnis KB/GB seinen Höchstwert beim ersten Titermaximum. Damit wurde der Befund der ersten Versuchsserie im grundsätzlichen bestätigt. — Die Verschiebung der Maxima dürfte mit der

schnelleren Entwicklung der Pflanzen im Spätsommer zusammenhängen, da der Impftermin dieser Serie zwei Monate früher lag als jener von 1951. Demzufolge waren im gleichen Zeitraum mehr Blätter gebildet worden.

Tabelle 2

Übersicht über das Untersuchungsergebnis von A-virusinfizierten White Burley-Pflanzen, deren Blätter innerhalb von 13 Wochen in jeweils einwöchigem Abstand auf ihre Viruskonzentration geprüft wurden.

Die Tabelle gibt Durchschnittswerte von jeweils zwei Pflanzen an. (Nähere Angaben im Text)

Infektionsdatum: 29. August 1952. Letzte Untersuchung: 1. Dezember 1952.

Wochen nach der Infektion	Anzahl der Blätter insgesamt*)	Anzahl der Blätter krank*)	Anteil der kranken Blätter an der Gesamtblattanzahl	Titer- Summe sämtlicher Blätter*)	Titer- Maximum einer Pflanze (einzelne Blätter)	Titer- Durchschnitt der gesamten Pflanze
1	5,0	2,0	40 %	3,0	2	0,6
2	6,0	2,5	42 %	4,5	2	0,8
3	5,0	3,5	70 %	23,5	8	4,7
4	5,5	4,5	82 %	15,5	4	2,8
5	6,5	4,5	69 %	15,0	4	2,3
6	6,0	5,5	91 %	31,0	12	5,2
7	8,0	5,5	69 %	20,5	6	2,5
8	9,0	7,0	78 %	23,5	8	2,6
9	10,5	9,5	90 %	31,5	6	3,0
10	11,0	9,0	82 %	25,5	4	2,3
11	9,5	6,0	63 %	13,0	4	1,4
12	10,0	7,0	70 %	11,0	4	1,1
13	7,0	4,0	57 %	10,0	4	1,4

*) Diese Werte sind in Abb. 3 graphisch dargestellt worden.

Die Analysen von den zur selben Zeit beimpften White Burley-Pflanzen ergaben im Gegensatz zum Sommerversuch ein klares Bild. Impftermin war der 29. August 1952, die Analysen wurden vom 8. September bis zum 1. Dezember 1952 durchgeführt; die einzelnen Werte sind in Tabelle 2 bzw. in Abb. 3 zusammengestellt worden.

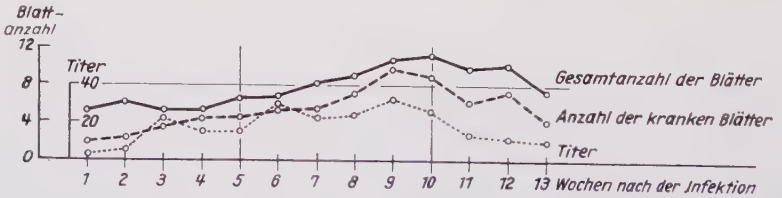


Abb. 3. Graphische Darstellung der Analysenwerte aus Tabelle 2 von White-Burley-Pflanzen. Die mit „Titer" bezeichnete Kurve stellt die jeweilige Höhe der Summe der Einzelblattiter dar

Ein Vergleich der Viruskonzentrationen in Samsun- und White Burley-Pflanzen (Abb. 1 und 3) zeigt, daß diese in der letzten Tabaksorte weitaus niedriger lagen, andererseits aber nicht so starke Schwankungen aufwiesen wie im Samsuntabak. Die Titersumme sämtlicher Blätter (Spalte 5) betrug

im Maximum nur 31,5, beim Samsun dagegen 137,5; auch die anderen Titerwerte (Spalte 6 und 7) lagen erheblich unter den entsprechenden Werten der Samsunpflanzen.

Besonders hervorzuheben ist die Tatsache, daß das Maximum der Viruskonzentration auch bei White Burley wiederum in der sechsten Woche nach der Beimpfung zu finden war. Außerdem bewirkte die bei diesen Kulturen verhältnismäßig früh einsetzende Chlorose (in der zehnten Woche) ein geringeres Absinken des Virustiters in der gesamten Pflanze als bei Samsun. Bis zur 13. Woche und — wie Stichproben in späteren Wochen ergaben — sogar noch zur Blütezeit ließ sich das Virus in jedem grünen Blatt nachweisen. Erst bei Preßsäften aus vergilbenden Blättern verlief der Test negativ. Als Dauerwirtspflanze läßt sich daher diese Sorte gut verwenden, dagegen ist sie für die Gewinnung von A-Antiseren weniger geeignet; denn während der für die Virusanreicherung günstigsten Zeit (sechste Woche nach der Beimpfung) betrugen die Blattanzahl nur die Hälfte und die Viruskonzentration ebenfalls annähernd die Hälfte von der des Samsuntabaks. Naturgemäß ist die absolute Virusausbeute auch von der Preßsaftmenge abhängig, die ihrerseits von der Blattgröße und dem bei der Saftgewinnung zurückbleibenden Zellgerüst bestimmt wird. Nach dem unter Ziffer 3 Gesagten erübrigt es sich jedoch, auf diese Beziehungen hier näher einzugehen. —

Nach diesem Ergebnis wurden für die Serumherstellung sechs Wochen alte A-Virus-Kulturen von Samsuntabak herangezogen. Der erzielte Titer betrug 1 : 512 und lag damit wesentlich über den Werten aus früheren Jahren, in denen White Burley als Wirtspflanze benutzt worden war.

Besprechung

Das mehr oder weniger schnelle Nachlassen der serologischen Aktivität des A-Virus im Blatt einer kranken Samsunpflanze ist die auffälligste Erscheinung der vorliegenden Untersuchungen. Sie könnte zunächst damit erklärt werden, daß die Viruskonzentration nach hohen Anfangswerten aus bisher unbekannten Gründen abnimmt und die zu einem späteren Zeitpunkt vorhandene Menge nicht mehr zur Bildung eines sichtbaren Präzipitates ausreicht. Ein so einfacher Zusammenhang scheint hier jedoch nicht vorzuliegen. — Zweifellos ist unsere Beobachtung mit der von KÖHLER erwähnten „Schwächung" des Virus gleichzusetzen. Nach seiner Erfahrung läßt sich das Virus bei Abimpfung von Samsun nicht beliebig oft nachimpfen, d. h. es ist in diesem Fall nicht mehr infektiös. Auch liegt es nicht etwa nur in geringen serologisch unterschwelligen Mengen vor; denn auch bei Übertragung in geringen Quantitäten — abgesehen vom Extremfall — vermag sich ein Virus innerhalb einer Wirtspflanze auszubreiten. Es benötigt unter diesen Umständen nur eine größere Spanne Zeit. Eigene in Ergänzung hierzu durchgeführte Tastversuche, bei denen Infektionen mit Preßsäften aus alten, jedoch noch grünen Blättern kranker Pflanzen negativ verliefen, stützen die Ansicht, daß die Reduktion der serologischen Aktivität des A-Virus mit der Reduktion der Infektiosität gekoppelt ist. Zum gleichen Ergebnis sind auch BAWDEN und andere Autoren

(1, S. 132) bei Untersuchungen mit X- und Y-Virus gelangt. — Demnach gilt es, die Ursache der Aktivitätsminderung zu finden.

Wir haben gezeigt, daß sich die Anzahl der serologisch negativ reagierenden Blätter mit zunehmenden Alter der Pflanzen vergrößerte und daß diese Erscheinung nicht erst bei Beginn der Chlorose in der 17. Woche auftrat. Bereits acht Wochen nach der Beimpfung waren die unteren künstlich infizierten Blätter serologisch „virusfrei". In den oberen Blättern aber ließ sich das Virus zu diesem Zeitpunkt, wie auch in den folgenden Wochen, immer noch in verhältnismäßig hohen Konzentrationen nachweisen. Jedoch während und nach der Blütenentwicklung sank der Virusspiegel schnell ab, so daß hier eine ursächliche Beziehung vorzuliegen scheint. Als vorläufige Erklärung nehmen wir folgendes an: Die bei der Blüte einsetzende physiologische Umstimmung der Pflanze könnte die Produktion eines Stoffes zur Folge haben, der nicht nur die Virusvermehrung hemmt, sondern auch die serologische Aktivität blockiert, so daß innerhalb kurzer Zeit in sämtlichen Blättern kein Virus mehr serologisch nachzuweisen ist. Ob das allmähliche Verschwinden des Virus aus den unteren Blättern ebenfalls auf eine Hemmstoffwirkung zurückgehen könnte — etwa in der Weise, daß die Pflanze bereits vor der Blüte einen derartigen Stoff hervorbringt und später eine gesteigerte Produktion infolge der Blütenentwicklung einsetzt — kann noch nicht entschieden werden. Ebenso läßt sich über den Wirkungsmechanismus dieses hypothetischen Stoffes nichts aussagen, d. h. es ist vorläufig unbekannt, ob er innerhalb der intakten Zelle wirksam ist oder ob er erst bei der Preßsaftgewinnung im Augenblick der Zellzerreißung in Aktion tritt, weil unsere Untersuchungen n u r *in vitro* vorgenommen werden können.

Eine erste Angabe über das Vorkommen eines die Virusaktivität mindernden Stoffes in alterndem, mit Tabakmosaikvirus (TMV) infiziertem Samsun und in anderen Tabakrassen findet sich bei MELCHERS und SCHRAMM (8), während KAUSCHE (4) eine Substanz aus Tabak s a m e n extrahiert hat, die eine stark inaktivierende Wirkung auf gereinigte TMV-Präparate ausübte. Nach Ansicht von MELCHERS und SCHRAMM wird der von ihnen gefundene Stoff von der Pflanze als Reaktion auf die Virusinfektion gebildet und hemmt die Vermehrung, so daß eine gewisse Zeit nach der Beimpfung eine Abnahme der Viruskonzentration erfolgt. Die Autoren sprechen sogar von einem „an die Wirkung der Antikörper bei der Immunität im Tierkörper" erinnernden Vorgang (S. 477). — Auch BERCKS (2) nimmt die Existenz eines Hemmstoffes als vorläufige Erklärung des unterschiedlichen Verlaufes von Zweitinfektionen mit nahe verwandten Kartoffel-X-Virusstämmen in verschieden alten Samsunpflanzen an. — HUTTON (3) dagegen vermutet auf Grund des unterschiedlichen Gelingens von X-Virusinfektionen an verschieden alten Tabakpflanzen, daß die Vermehrungshemmung durch altersbedingte Veränderungen des Stoffwechsels verursacht wird. Inaktivierende Substanzen hat HUTTON nicht nachgewiesen.

Andererseits ist nach BAWDEN und Mitarbeitern (1, S. 170) und nach LIMASSET, CORNUET und GENDRON (6, 7) die Methodik der Saftgewinnung bzw. Extraktion für den Virusgehalt von ausschlaggebender Bedeutung. Wenn

der Preßsaft durch Zerkleinern der Blätter im Mörser gewonnen worden war, fanden die letztgenannten Autoren in jüngeren Blättern TMV-kranker Pflanzen etwa viermal soviel Virus wie in alten; dagegen waren die Unterschiede nach Extraktion des Gewebes mit Schneckenenzym oder nach Homogenisierung erheblich geringer. Diese unterschiedlichen Resultate werden auf die Tatsache zurückgeführt, daß sich das Virus im Zytoplasma der Wirtspflanze und nicht in den Vakuolen vermehrt. Bei älteren Blättern tritt der Anteil des Zytoplasmas gegenüber den Vakuolen zurück, so daß der Virusgehalt im Preßsaft dieser Blätter stark herabgesetzt wird. Außerdem sind die Zellwände und das Leitgewebe dieser Organe stärker entwickelt und lassen beim Zerreiben nicht so viel Zytoplasma in den Saft austreten. — Wenn sich die Ergebnisse von LIMASSET und Mitarbeitern verallgemeinern lassen, so müßte unsere Methodik (Preßzangen) von vornherein zu unterschiedlichen Resultaten zwischen alten und jungen Blättern führen. Trotzdem sind wir der Ansicht, daß unsere extremen Werte (Absinken der Viruskonzentration bis auf Null) nicht auf die Art der Saftgewinnung allein zurückzuführen sind. — Daß diese Autoren bei ihren Versuchen mit TMV keine Hemmstoffwirkung erwähnen, dürfte daran liegen, daß sie mit augenscheinlich jüngeren Pflanzen gearbeitet haben als MELCHERS und SCHRAMM. Demnach scheint das Alter der Viruskultur ein wesentlicher Faktor für das Auffinden eines solchen Stoffes zu sein.

Weiterhin sei hervorgehoben, daß der von MELCHERS und SCHRAMM nachgewiesene Hemmstoff in Samsunpflanzen auftrat, daß BERCKS die Bildung eines solchen Stoffes ebenfalls bei Samsuntabak für möglich hält und daß schließlich unsere Versuche mit der gleichen Wirtspflanze etwas Ähnliches vermuten lassen. Dagegen ist aus dem Verhalten der White Burley-Kulturen die Existenz eines Hemmstoffes nicht abzuleiten, weil hier die serologisch negativen Reaktionen erst in Blättern mit beginnender Chlorose auftraten. Außerdem kann nicht entschieden werden, ob das Verschwinden des A-Virus aus den Samsunkulturen im Sommer 1952 gleichfalls der Wirkung eines Hemmstoffes zuzuschreiben ist, dessen frühzeitige und starke Produktion in diesem Fall durch den Hitzeschock ausgelöst worden sein könnte. — Die Untersuchungen zum Nachweis des vorläufig hypothetischen Hemmstoffes werden fortgesetzt.

Zusammenfassung

Die Qualität von Antiseren zur Diagnose pflanzlicher Virosen ist in hohem Maße von der Konzentration des Antigens abhängig, das aus den entsprechenden Wirtspflanzen gewonnen und sodann angereichert wird. Bei Viren, die nur in verhältnismäßig geringen Mengen in der Pflanze vorhanden sind, kommt es in besonderem Maße darauf an, daß die Ernte der kranken Blätter zu dem Zeitpunkt erfolgt, an dem diese eine möglichst hohe Viruskonzentration aufweisen.

Um diesen Zeitpunkt bei A-virusinfizierten Pflanzen, die zu oben angegebenem Zweck aufbereitet werden sollen, zu ermitteln, wurde das Ver-

halten des A-Virus in Samsun- und White Burley-Tabak bis zu 21 Wochen nach der Infektion mittels der serologischen Blättchenmethode beobachtet. Die Bestimmung der Viruskonzentration wurde durch Austitern der Preßsäfte vorgenommen.

Es ergab sich, daß das Maximum der Viruskonzentration — auf die gesamte Pflanze bezogen — unter bestimmten Versuchsbedingungen in der sechsten Woche nach der Infektion lag. Die Kultur des A-Virus war auf Samsuntabak vorteilhafter, weil hier im Vergleich zu White-Burley-Kulturen die Viruskonzentration und die im gleichen Zeitabschnitt gebildete Blattanzahl (ohne Berücksichtigung der Blattgröße) etwa das Doppelte betrugen. — Weiterhin wurde festgestellt, daß die Konzentration in den einzelnen Blättern des Samsun nicht gleich war, sondern von unten nach oben hin zunahm; die Spitzenblätter enthielten allerdings weniger Virus.

Mit fortschreitendem Alter der Pflanzen ließ sich das Virus in den unteren Blättern nicht mehr serologisch nachweisen, und nach Beginn der Blüte sank die Viruskonzentration innerhalb weniger Wochen auch in den oberen Blättern bis auf Null, obwohl die zu diesem Zeitpunkt einsetzende Abreife keineswegs sämtliche Blätter erfaßt hatte. Diese Erscheinung wird vorläufig als Wirkung eines Hemmstoffes gedeutet und diskutiert.

An White Burley-Pflanzen wurden derartige Schwankungen des Virusspiegels nicht beobachtet, auch blieb das A-Virus in alten, noch grünen Blättern serologisch aktiv und infektiös; diese Sorte ist daher gut als Dauerwirtspflanze zu verwenden. Dagegen ist die Sorte Samsun wegen der größeren Virusausbeute für die Serumherstellung geeigneter.

Die unter Benutzung von Samsunkulturen hergestellten A-Antiseren [illegible] einen Titer von 1 : 512.

Literaturverzeichnis

1. Bawden, F. C., 1950: Plant viruses and virus diseases. Waltham, Mass. USA.
2. Bercks, R., 1949: Serologische Beiträge zur Frage der Abwehr von Zweitinfektionen bei X-Viren. Phytopath. Z. **15**, 54—61.
3. Hutton, E. M., 1951: An age-induced variation in susceptibility to virus X in *Nicotiana tabacum* L. Austral. J. Sci. Res. Ser. B **4**, 450—460; ref. Ber. wiss. Biol. **79**, 1952, 169.
4. Kausche, G. A., 1940: Über eine das Virusprotein inaktivierende Substanz im Samen von *Nicotiana tabacum* Samsun. Biol. Zbl. **60**, 423—438.
5. Köhler, E., 1937: Über ein Veinbanding-Virus der Kartoffel. Phytopath. Z. **10**, 17—29.
6. Limmasset, P., Cornuet, P. et Gendron, Y., 1949: Titrage du virus de la mosaique du Tabac (*Marmor tabaci* Holmes) dans les organes aériens du Tabac infectés. C. R. Acad. Sci. **228**, 1888—1890.
7. — —, — —, 1950: Étude de la corrélation entre l'âge des organes aériens et la quantité de virus contenue dans ces derniers chez le Tabac infecté par le virus de la mosaique du Tabac (*Marmor tabaci* [Orton] Holmes). Ann. Épiphyt. **1**, 274—285.
8. Melchers, G. und Schramm, G., 1940: Über den Verlauf der Viruskrankheit in anfälligen und resistenten Rassen von *Nicotiana tabacum*. Naturwissenschaften **28**, 476—478.
9. Stapp, C. und Bercks, R., 1948: Über weitere Antrocknungsversuche mit Seren gegen Kartoffelviren. Phytopath. Z. **15**, 47—53.

Über die histologische Spezialisierung von Blatt- und Rindenpilzen, mit besonderer Berücksichtigung ihrer Beziehungen zum Phloem

Von

Roswitha Schmid

Mit 17 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — A. Material und Technik. 1. Material. 2. Einbetten und Schneiden. 3. Färben. — B. Untersuchungen. 1. Zur Einführung: *Cuscuta*. 2. *Armillaria mellea* (Hallimasch) in Fichte. 3. *Cronartium ribicola* und *asclepiadeum* (Rindenblasenrost) in der Weymouthskiefer und der gemeinen Kiefer. 4. *Coleosporium senecionis* in der Kiefernnadel und im Blatt von *Senecio vulgaris*. 5. *Melampsorella caryophyllacearum* in Tanne (Tannenhexenbesen). 6. *Gymnosporangium Sabinae* in Wacholder *(Juniperus pyramidalis)*. — C. Diskussion. — D. Zusammenfassung der Ergebnisse. — E. Literatur.

Einleitung

Im Vergleich zur Humanmedizin ist in der Botanik die pathologische Anatomie wenig entwickelt, weil nur wenige Pathologen zugleich die Anatomie ausreichend beherrschen.

Als rühmliche Ausnahmen seien die Klassiker dieses Arbeitsgebietes, Robert Hartig (Lehrbuch der Pflanzenkrankheiten, 1882), Ernst Küster (Pathologische Pflanzenanatomie, 1903) und Ernst Gäumann (Pflanzliche Infektionslehre, 1946) hervorgehoben. Ersterem verdanken wir vor allem eine genaue Lokalisierung der Tätigkeit holzzerstörender Pilze.

Viel mangelhafter ist unser Wissen über eine allfällige histologische Spezialisierung von Rindenpilzen. Als Huber (1942) einer Reihe namhafter Pathologen die Frage vorlegte, ob Rindenpilze die Siebröhren als Assimilatleitbahnen ausbeuten, wie das die phanerogamen Ganzschmarotzer (*Cuscuta, Rafflesia*) tun, konnte keiner diese Frage mit Sicherheit beantworten.

Daher ermunterte mich Herr Prof. Huber, einmal dieser Frage vor allem an den hierfür aussichtsreichsten Rostpilzen nachzugehen. Die Untersuchungen wurden durch die großen Erfahrungen erleichtert, die das Forstbotanische Institut München durch die Arbeiten von Huber (1939) und Holdheide (1951) auf dem Gebiete der Rinden-, insbesondere der Siebröhrenanatomie besitzt.

Natürlich durfte ich meinen Blick nicht vorgefaßt ausschließlich auf die Beziehungen der Pilze zu den Siebröhren einengen, sondern untersuchte erst einmal die Verteilung der Pilze in der gesamten Rinde, mit besonderer Berücksichtigung der Safthaut.

An Hand dieser Erhebungen, welche den Hauptteil meiner Arbeit ausmachen, soll abschließend die Frage einer Ausbeutung des laufenden Assimilatstromes behandelt werden.

Die Untersuchungen wurden im Forstbotanischen Institut München unter Leitung von Herrn Prof. Dr. B. HUBER ausgeführt. Ihm und all denen, die den Fortgang der Arbeit gefördert haben, sei ein herzliches Dankeswort gewidmet, insbesondere Herrn Prof. Dr. W. HOLDHEIDE für wertvolle Hinweise, Herrn Forstmeister Prof. Dr. F. ERNST, Anzing, für die freundliche Unterstüzung in der Materialbeschaffung, der technischen Assistentin des Instituts, Fräulein A. JOHN, für die Photoarbeiten.

A. Material und Technik

1. Material: Zur Verwendung kam sowohl frisches als auch in Alkohol fixiertes Material. Die Alkoholfixierung erwies sich in den meisten Fällen als ungünstig für eine erfolgreiche Färbung der Präparate. Es mußten deshalb feinere Fixierungsmethoden angewendet werden. Gut geeignet war eine Fixierung in Formol oder BOUINS Fixierungsgemisch (Pikrinsäure-Formol-Eisessig; Näheres bei ROMEIS S. 69). Die Materialstückchen blieben ungefähr zwei Tage in der Fixierungsflüssigkeit.

Auch eine Hitzefixierung in Wasser (von 60° C ansteigend) zeigte sich als brauchbar. In den Fällen, da das Material wegen großer Härte vor dem Schneiden gekocht werden mußte, wurde diese Fixierungsmethode mehrfach verwendet. Eine Regel kann hier schwer aufgestellt werden, da die einzelnen Objekte, besonders die Pilzhyphen, sehr unterschiedlich auf die verschiedenen Methoden ansprechen.

2. Einbetten und Schneiden: Die Einbettung in Zelloidin (nach KISSER 1939, S. 643) eignete sich in allen Fällen sehr gut. Schwierig ist schon die Herstellung guter Präparate von gesunder Rinde. HOLDHEIDE (1951) gibt an, daß die übliche Behandlung der Fixierung und Einbettung meist nicht angewendet wurde, weil dadurch eine zu starke Härtung der sklerotischen Gewebe hervorgerufen wurde. So hat sich bei HOLDHEIDE das Schneiden saftfrischer Rinden am besten bewährt.

Bei der Behandlung pilzbefallener Rinden treten nun noch größere Schwierigkeiten auf, da oft durch den Einfluß der Hyphen die Zellen auseinandergedrängt oder auf irgendeine Weise geschädigt waren. Es kam ja gerade darauf an, eine eventuelle Desorganisation durch den Pilz festzuhalten. Auch besteht beim saftfrischen Schneiden die Gefahr, daß sich die feinen Pilzfäden einfach aus dem Gewebe herauslösen und somit ein falsches Bild entsteht. Eine Einbettung läßt sich also beim Arbeiten mit pilzkranken Geweben in den meisten Fällen nicht vermeiden. Frische Schnitte wurden in allen Fällen zum Vergleich herangezogen; ebenso wurde pilzbefallenes mit gesundem Material verglichen.

Mit dem Mikrotom wurden im allgemeinen Schnitte von 10 bis 20 μ gemacht.

3. Färben: Das Auffinden von Pilzhyphen in Geweben wird durch zweckmäßige Färbung wesentlich erleichtert. Hierbei stößt man aber besonders in der Rinde auf mancherlei Schwierigkeiten: Fast jeder Pilz reagiert etwas anders auf die Färbemittel; das plasmareiche Rindengewebe selbst spricht auf die meisten Farben sehr stark an. Plasma von Pilz und Wirtspflanze weicht nur wenig, nicht grundsätzlich voneinander ab. Deshalb ist es schwierig, plasmareiche Hyphen in der Rinde färberisch zu differenzieren. Die Orientierung wird noch erschwert durch färbbare Substanzen, die sich

im pathologisch veränderten Wirtsgewebe gebildet haben (z. B. Harze). Weder in der Literatur noch durch eigene Versuche konnte ich eine Färbemethode finden, die nur die Pilzhyphen färbt bzw. diese durch eine ganz besondere Farbe im Rindengewebe kontrastreich hervortreten ließe.

Die relativ besten Erfolge konnte ich mit der Färbung nach CARTWRIGHT (1929) erzielen, die dort zum Nachweis von Pilzhyphen im Holz angewendet wurde; zum gleichen Zweck und mit gutem Erfolg benützten v. PECHMANN und SCHAILE (1950) diese Methode. Sie eignete sich für frische und fixierte Schnitte: nach der Färbung in wäßriger Safraninlösung werden die Schnitte in einem Pikrinsäure-Anilinblau-Gemisch bis kurz vor dem Siedepunkt erhitzt. Nun wird mit Alkohol möglichst lange ausgewaschen. Die Schnitte können nach Fixierung und Färbung tagelang in Alkohol bleiben, da die Farben sehr stark haften. Die Hyphen sind nun blau gefärbt und treten im Holz gegenüber den mattroten Tracheidenwänden sehr kontrastreich hervor. Dagegen färbt sich auch der plasmatische Inhalt der Markstrahl-, Parenchym-, Kambium- und Siebzellen blau. Dadurch wurde die Identifizierung der Hyphen in der Rinde erschwert. Durch einige Übung konnten feine Farbunterschiede zwischen dem Hyphenplasma und dem Wirtszellplasma in den meisten Fällen festgestellt werden; soweit die (nicht gefärbte) Hyphenwand sichtbar war, bot diese natürlich den wichtigsten Anhaltspunkt. Stark geschädigte Gewebeteile wurden nach der CARTWRIGHTschen Methode meist bläulich-rot gefärbt; violette Farben zeigten die oft verharzten Parenchymzellen durch die Überlagerung von Blau (Plasma) und Rot (Harze).

Man sollte annehmen, daß die chemischen Unterschiede im Wandbau von Wirt und Parasit eine Möglichkeit zur färberischen Unterscheidung bieten. Zwar sind die Kenntnisse über den Aufbau der Pilzzellwand noch lückenhaft; doch ist der Hauptbestandteil bei den Hyphenpilzen meist das Chitin. Die bis jetzt veröffentlichten Chitinnachweisreaktionen sind meist sehr umständlich und kompliziert (Näheres bei SCHNEIDER S. 287). Oft können sie nur nach Mazeration des Präparates angewendet werden, was für meine Zwecke natürlich nicht in Frage kam.

Zum Nachweis von pathogenen Pilzen in tierischem Gewebe wandten KLIGMAN und MESCON (1950) eine Chitinreaktion mit Erfolg an: nach Oxydation mit Perjodsäure und Anfärbung der entstandenen Aldehyde mit SCHIFFschem Reagens (sog. HOTCHKISS-MCMANUS-Färbung) wird mit Lichtgrün gegengefärbt. Die Pilzzellwände sollen dann rot erscheinen. Ich versuchte diese Methode bei *Gymnosporangium, Melampsorella, Cronartium, Celeosporium* u. a.; doch färbten sich auch die Wände der umliegenden Wirtszellen rot und quollen außerdem meist so stark, daß man höchstens einen Pilznachweis, nicht aber eine exakte Gewebeuntersuchung machen konnte. Im Holz dagegen zeigten sich die Hyphen rot mit dunkelroten Wänden auf fast farblosem Grund.

Ich prüfte noch eine Reihe weiterer in der Literatur angegebener Färbeverfahren, z. B. die von GAGE, RAWITSCHER und CHESTERS (angegeben bei BAVENDAMM 1951), FLEMMING, GIEMSA, DELAFIELD (Näheres bei SCHNEIDER), HOLZ (1936); ich konnte jedoch keine bessere Differenzierung als mit der eingangs beschriebenen Färbung erreichen.

Den fluoreszenzmikroskopischen Nachweis von Pilzen in der menschlichen Hornschicht empfiehlt JANKE (1951): Man läßt 15 %ige Kalilauge auf den Schnitt einwirken, dann Acridinorange. Die Mycelfäden bzw. Sporen von Fadenpilzen, sowie auch die Rundzellen von Hefen und hefeähnlichen Pilzen heben sich nach JANKE mit leuchtend grüngelbem Farbton von einem dunkelgrünen bis bläulichen Grund ab. Die Zellwand der pathogenen Organismen bleibt unsichtbar, da das Fluorchrom vom Zellplasma

gespeichert wird. Ich versuchte die Methode bei *Coleosporium* (in *Pinus*-Nadeln) und *Melampsorella*, konnte aber keinen der angegebenen Fluoreszenzeffekte erreichen.

Das Verfolgen der Pilzhyphen wird vielfach erleichtert durch Untersuchung der Präparate mit dem Phasenkontrastmikroskop. Mit der Phasenkontrasteinrichtung von LEITZ hat man die Möglichkeit, die verschiedenen Stadien Hellfeld, Phasenkontrast, Dunkelfeld in gleitendem Übergang am Präparat zu beobachten. Dadurch lassen sich Konturen, die bei Einstellung des Phasenkontrastes aufleuchten, den einzelnen Elementen im Hellfeld zuordnen.

Nach einem russischen Autor (EVERT 1950) sollen die Pilzhyphen in frischen, ungefärbten, sehr dünnen Schnitten im Phasenkontrast hell aufleuchten, während das übrige Gewebe dunkel bleibt*). EVERT beobachtete diesen Effekt bei *Ustilago avenae* im Haferstengel. Auch GANZ (1944) bildet Pilzhyphen ab, die im Vergleich zum Hellfeld im Phasenkontrast viel stärker hervortreten.

Für die Untersuchungen an Rinden ist die von EVERT angegebene Methode allerdings nicht ohne weiteres anwendbar, da sich eine Fixierung und Einbettung meist nicht umgehen läßt. Dagegen untersuchte ich frische Schnitte von *Pinus*-Nadeln mit *Coleosporium* mit dem Phasenkontrast-Verfahren. Es ließ sich feststellen, daß nur ein gewisser Teil der Hyphen hellgrün aufleuchtete, während die Hauptmasse keinen besonderen Effekt zeigte. Die aufleuchtenden Hyphen waren sehr dünn, anscheinend die jungen Hyphen, während die dickeren, älteren doppelt konturiert waren und dunkel blieben. Die Schnitte sollen für diese Untersuchungen besonders dünn sein. Diese Bedingung kann bei pilzbefallenen Gewebeschnitten meist nicht erfüllt werden, da bei zu dünnen, besonders nicht fixierten Schnitten die Hyphen sich beim Schneiden leicht herauslösen. Doch beschreibt FREY-WYSSLING (1952) einen Kontrasteffekt dicker Objekte, der bei Kugel- und Zylinderobjekten festgestellt werden konnte. Diesen könnte man auch bei Hyphen oder kugelartigen Haustorien erwarten. In manchen Fällen konnte ich auch eine Kontrastwirkung bei dickeren Objekten beobachten. Dabei zeigten die Hyphen meist eine zentrale Schwärzung.

Bei der Untersuchung des Hexenbesens (von *Melampsorella* befallene Tannenachsen) hat sich nach meinen Erfahrungen das Phasenkontrast-Mikroskop gut bewährt. Die Haustorien leuchten hellgrün auf, die Wände der Pilzhyphen etwas dunkler grünlich, die Zellwände weißlich. Die Unterschiede sind aber so fein, daß sie nur bei sehr eingehendem Vergleich festgestellt werden können, meist nur an äußerst dünnen Stellen des Präparates. Die gefärbten Präparate eignen sich auch hier besser zur Untersuchung, da das Hellfeld ständig zur Kontrolle herangezogen werden muß. So lassen sich z. B. die Haustorien in der Phase wohl leicht feststellen, die genauen Umrisse dagegen sind im Hellfeld besser zu beobachten. Auffällig ist, daß gewisse Hyphenpartien wie Haustorien aufleuchten.

Kanadabalsam bzw. Cädax eignet sich für die Untersuchung im Phasenkontrast-Mikroskop schlecht. FREY-WYSSLING empfiehlt Wasser, Glyzerin und Zimtöl als Einschlußmittel. Nach HEINZE (1952) liefert ein Polyvinyl-Lactophenol-Gemisch als Einschlußmittel außergewöhnlich klare Bilder. An entomologischen Objekten konnten in diesem Medium feinere Kutikularstrukturen und Borsten sichtbar gemacht werden. Zur vorhergehenden Färbung wird Direkttiefschwarz (Benzoeschwarz) empfohlen. Bei Anwendung dieser Methode auf pilzbefallene Gewebeschnitte konnte ich feststellen, daß die Leuchtkraft der Bilder gegenüber Cädax tatsächlich stark erhöht war. Die Pilzhyphen besonders haustorienartige Strukturen, traten sehr stark hervor. Allerdings zog ich in den meisten Fällen zu einer sehr genauen Untersuchung (besonders bei Ölimmersion) die Cädaxeinbettung vor. Denn die oft äußerst starken Lichteffekte der Wände der Wirtszellen gaben leicht etwas verschwommene Bilder. Mit Direkttiefschwarz färben sich die Hyphen schwarzblau. Leider nehmen aber auch die umliegenden Gewebe die dunkle Farbe an. Die Siebfelder treten bei dieser Färbung besonders deutlich hervor.

Zusammenfassend läßt sich über die Anwendung des Phasenkontrast-Verfahrens feststellen, daß Pilzhyphen in pflanzlichem Gewebe meist keine eindeutige Kontrastwirkung hervorrufen. Durch Vergleich mit dem Hellfeld und allen dazwischenliegenden Übergängen können die Untersuchungen jedoch wesentlich erleichtert werden.

*) Die Arbeit war mir leider nur im Referat zugänglich.

B. Untersuchungen

1. Zur Einführung: *Cuscuta*

Gewisse ganzschmarotzende Blütenpflanzen bringen eine hochspezialisierte Ausnützung des Assimilatstromes zustande (Huber 1942). Der Zusammenhang ist jedoch erst für wenige Fälle einwandfrei klargestellt, vor allem durch die Untersuchungen von Schumacher (1934) und von Schumacher und Halbsguth (1938). Die älteren Arbeiten geben meist über die Leptomanschlüsse keinen Aufschluß, weil die Siebröhren nicht erkannt wurden (Literatur bei Sperlich 1925). Ich halte es für angebracht, zur Einführung einen dieser Vertreter näher zu betrachten. Es soll eine Hilfe zur Klärung der Problemstellung überhaupt sein.

Trifft die junge *Cuscuta*-Pflanze auf einen geeigneten Wirt, so umschlingt sie diesen, und es bilden sich bald an der dem Wirt angeschmiegten Seite papillöse Wucherungen (vgl. Erysiphaceen!), die in die Gewebe der Wirtspflanze eindringen. Aus diesen Prähaustorien bilden sich die eigentlichen Haustorien, die dann tiefer in den Wirt vordringen. Mit den Enden legen sie sich an den Sieb- und Holzteil der Gefäßbündel an. Einzelne freie Zellreihen dringen „wie Pilzfäden" im Parenchym des Wirtes vor (Strasburger S. 138). Schumacher hat diese Absorptionsorgane sehr eingehend untersucht: Die Haustorialhyphen dringen unter Zerstörung der übrigen Gewebe auf die Siebröhren zu, wachsen diesen, ohne sie selbst zu verletzen, entlang und umgreifen sie wie die Finger einer Hand, indem aus den Längshyphen „wie Zähne eines Rechens" zahlreiche seitliche Ausstülpungen sprossen.

Cuscuta entzieht auf diese Weise dem Siebteil und Rindenparenchym seine Nährstoffe. Nach Strasburger werden den Siebröhren die wandernden Nährstoffe in einer „noch nicht geklärten Weise" entzogen, indem sich die Aufnahmezellen von außen an sie anschmiegen. Zu beachten ist, daß hier keine Haustorien ins Zellinnere getrieben werden. Von der Siebröhrenaussaugung durch Blattläuse unterscheidet sich diese Ablenkung des Assimilatstromes dadurch, daß ein Anstich, wie er bei hyphenähnlichen Verbindungen an sich denkbar wäre, unterbleibt (Huber 1942). Selbst eine Ausbildung gemeinsamer Siebplatten oder wenigstens Plasmodesmen zwischen Wirtssiebröhren und Schmarotzer wurde nicht beobachtet (Schumacher). Der Stoffübertritt muß also auf osmotischem Wege erfolgen. Daß tatsächlich ein Teil des Assimilatstromes in die Schmarotzerpflanze gelenkt wird, hat Schumacher mit Fluorescein bewiesen. Diese Überleitung des Assimilatstromes vom Wirt auf den Schmarotzer ist das Raffinierteste, was man sich denken kann, und dürfte nach Huber durch die organisatorische Verwandtschaft von Blütenpflanze zu Blütenpflanze begünstigt werden.

2. *Armillaria mellea* (Hallimasch) in Fichte

An die Spitze unserer Pilzuntersuchungen stellen wir den Hallimasch, weil dieser Pilz im Kambium, wie schon der makroskopische Befund zeigt,

also in nächster Nähe der die tätigen Siebzellen*) führenden Safthaut vordringt.

a) Bisherige Literatur

Der Hallimasch tritt als Saprophyt an totem Holz, als Parasit an lebenden Bäumen, besonders an Nadelhölzern, auf. In der Erde verbreitet er sich durch Rhizomorphen, die durch die Borke ins Innere des Baumes dringen. Dort breitet sich die *Rhizomorpha subcorticalis* fächerförmig nach allen Richtungen, besonders in der Längsrichtung aus. Den Randhyphen der *Rhizomorpha* entspringt ein feinfädiges Mycel, das eigentliche Organ zur Nahrungsaufnahme. Nach GÄUMANN (1926) verursachen die Hyphen den Tod der Bäume; doch gibt MÜNCH (1932) an, daß der Befall nicht immer tödlich ist. Nach geringer Ausbreitung unter der Rinde kann das Vordringen wieder zum Stillstand gebracht werden. Dadurch und durch nachfolgende Überwallung kann der Angriff abgeschlagen oder stark aufgehalten werden. Über die Art der Ausbreitung im Rindengewebe fand ich nur allgemeine Angaben: Nach MÜNCH suchen die Rhizomorphen besonders die sauerstoffärmsten, wasserreichsten Gewebe, wie Bast und Kambium, auch Splintholz auf. GÄUMANN (1951) beschreibt die starke Giftwirkung der Hyphen: die Zellen des Rindenparenchyms werden schon in weitem Abstand vor dem eindringenden Hyphenstrang verändert und sterben schließlich ab. Mit dem Befall des Holzes und seinen Zersetzungserscheinungen befaßte sich HARTIG (1878) sehr eingehend: Die Hyphen dringen besonders durch die Markstrahlen, aber auch direkt durch die Tracheidenwandungen aus dem Bastgewebe in den Holzkörper ein. Von den Markstrahlen verbreiten sie sich seitlich in die angrenzenden Tracheiden. Zarte Seitenhyphen durchbohren die Wände und lösen sie auf. Hauptsächlich Lignin wird herausgelöst, was eine Weißfäule des Holzes zur Folge hat. Die Mycelfäden bilden auch blasenförmige Anschwellungen, die manchmal klein und isoliert bleiben und nur hier und da den Hofraum eines Tüpfels ausfüllen. In der Regel nehmen sie aber das ganze Innere der Tracheide als blasig-schaumige Masse ein, ähnlich wie Thyllen bei Eichengefäßen. Dieses blasige Mycel stirbt ab, schrumpft zusammen, und einfache dünne Hyphen treten an dessen Stelle. In den Markstrahlen sieht man die Blasenbildung nur vereinzelt. Nach HARTIG ist die Einwirkung des Blasenmycels auf die Zellwand eine sehr tiefgreifende. Die Organe zur Harzsekretion sind in der kranken Pflanze ungewöhnlich zahlreich und groß. Die Harzgefäße der grünen Rinde haben einen drei- bis vierfach größeren Durchmesser als gewöhnlich. In der jüngsten Holzlage sind sie so zahlreich und dicht gedrängt, daß sie verschmelzen. Dieser äußerste Jahrring bleibt immer außergewöhnlich schmal, ein ungewöhnlich breiter geht diesem voraus. In den Harzkanälen wachsen die Hyphen schnell aufwärts, weit höher, als die *Rhizomorpha subcorticalis* sich im Bast entwickelt hat. Das stärkemehlführende Zellgewebe (= Holzparenchym) in der Umgebung der Kanäle wird zerstört. Dadurch entsteht zuletzt eine große Lücke und wird das sogenannte „Harzsticken" (in Holland „Totbluten") herbeigeführt. GÄUMANN (1951) beschreibt ebenfalls eine abnorme Harz- und Gummibildung, wie sie sonst nach Verwundung eintreten kann; die Hyphen sollen durch den Harzfluß jedoch nicht behindert werden.

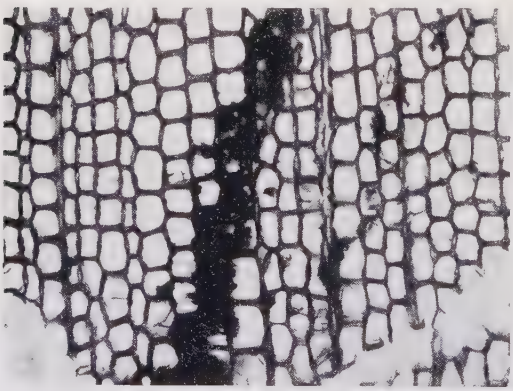


Abb. 1. Fichtenholz mit Hallimaschmycel (blasig und fädig), nach einem Schnitt von R. HARTIG, 1871 (quer, 360fach)

*) Weiterhin abgekürzt Sz geschrieben.

Die verschiedenen Stadien der Holzzersetzung werden von HARTIG in allen Einzelheiten und mit Zeichnungen beschrieben. Das Forstbotanische Institut München besitzt eine Reihe der HARTIGschen Präparate. So war es mir möglich, seine Angaben nicht nur an Hand der Literatur, sondern auch mit Originalpräparaten zu verfolgen. Es ist verständlich, daß die nun teilweise über 80 Jahre alten Schnitte im Laufe der Zeit gelitten haben. Ich gestattete mir daher, einige davon aufzufrischen und zu färben. Das nachfolgende Bild (Abb. 1) zeigt einen Querschnitt durch Fichtenholz mit blasigem und fädigem Mycel des Hallimasch, nach einem Präparat von R. HARTIG, Juli 1871.

b) Eigene Untersuchungen

Zur Untersuchung wurden sechsjährige Fichtenachsen verwendet. Eine Fixierung in Formol hat sich für die spätere Färbung der Schnitte mit Safranin und Pikrinsäure-Anilinblau bewährt. Die Einbettung (in Zelloidin) läßt sich nicht vermeiden, da sich die Rinde, besonders in fortgeschrittenem Befallsstadium, sehr leicht ablöst. Es wurden Quer- und Längsschnitte durch die Achsen in mehreren Höhen geführt, um die verschiedenen Befallsstadien zu erfassen. Um den Verlauf der Hyphen festzustellen, eignen sich am besten radiale Längsschnitte. Der Querschnitt ist dagegen zur Entscheidung wichtig, ob die Hyphen inter- oder intrazellular wachsen und ob die Siebzellen kollabiert sind. Das Phasenkontrastverfahren erleichterte das Auffinden der Hyphen. Besonders intensiv leuchteten gewisse Hyphenpartien auf, haustorienähnliche Ausstülpungen, auf die ich weiter unten noch näher eingehen werde. Meine Untersuchungen bezogen sich besonders auf die frisch befallenen Gewebe, also die Umgebung der vordringenden Spitze der *„Rhizomorpha subcorticalis"*.

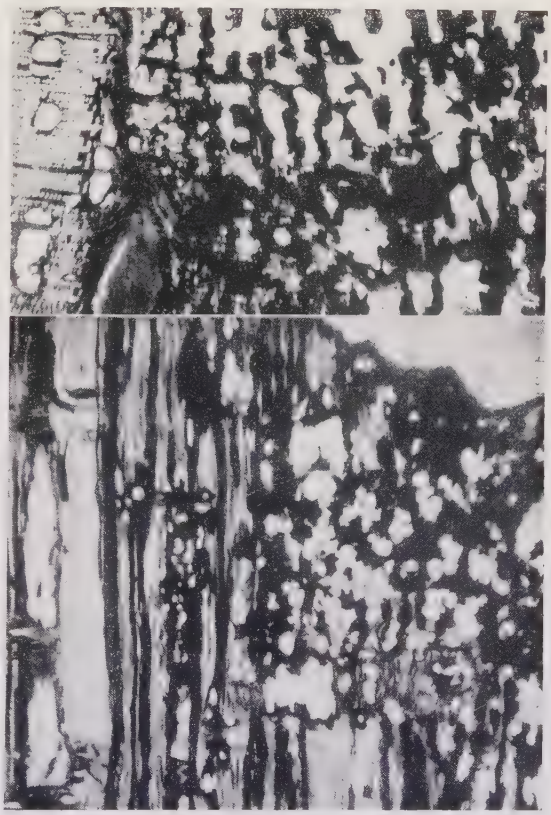


Abb. 2. Fichte mit Hallimasch, Übersicht (60fach). Oben: quer; links unten die zwischen Holz und Rinde vordringende Rhizomorphenspitze. Unten: radial; rechts oben und in der Mitte Rindenharzlücken, links Harzgang im Holz

Im Übersichtsbild (Abb. 2) fallen besonders die großen Harzlücken auf. Pilzhyphen sah ich in diesen Rindenlücken fast nie. Die Parenchymzellen bilden eine dunkle Masse (Harz- und Gummibildung), besonders in nächster Umgebung der *Rhizomorpha subcorticalis*. Zwischen den Parenchymzellen sieht man in der äußeren Rinde nur noch Lücken mit spärlichen Wandresten von Siebzellen und vereinzelten dünnen und dicken Hyphen. In der inneren Rinde sind die Harzlücken schmaler; man sieht aber auch hier die fort-

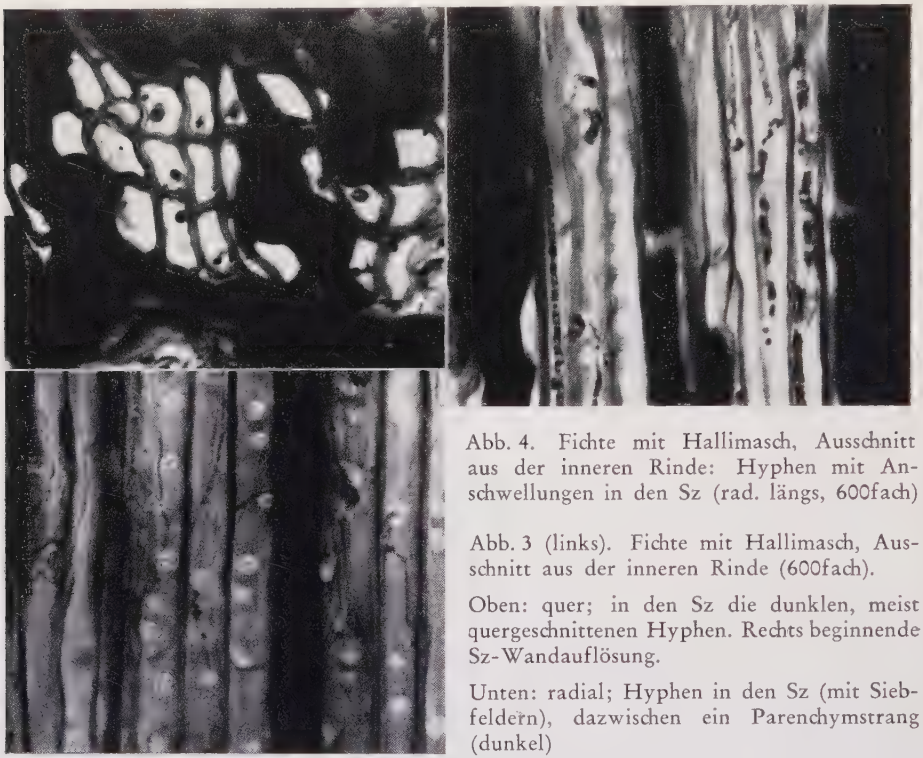


Abb. 4. Fichte mit Hallimasch, Ausschnitt aus der inneren Rinde: Hyphen mit Anschwellungen in den Sz (rad. längs, 600fach)

Abb. 3 (links). Fichte mit Hallimasch, Ausschnitt aus der inneren Rinde (600fach).

Oben: quer; in den Sz die dunklen, meist quergeschnittenen Hyphen. Rechts beginnende Sz-Wandauflösung.

Unten: radial; Hyphen in den Sz (mit Siebfeldern), dazwischen ein Parenchymstrang (dunkel)

schreitende Auflösung der angrenzenden Gewebe (Abb. 2). Der stark färbbare Inhalt der Strangparenchymzellen markiert diese sehr auffällig. Pilzhyphen konnte ich nur ganz selten darin feststellen; erst in sehr fortgeschrittenen Krankheitsstadien treten sie häufiger auf. Die Markstrahlzellen lassen in den inneren Bastschichten meist noch Kern und Plasma erkennen, zeigen sich also weniger pathologisch verändert als die anderen Parenchymzellen. Sie sind oft von Hyphen befallen. Die innersten Sz-Schichten machen auf dem Übersichtsbild einen normalen Eindruck. Bei näherer Betrachtung zeigt der Querschnitt, daß auch die innersten Sz schon kollabiert und stark von Pilzhyphen durchwachsen sind. Die Hyphen befinden sich nur innerhalb der Sz (Abb. 3 und 4). Oft laufen mehrere Fäden nebeneinander. Seitenäste wachsen häufig quer durch die Sz. An manchen Stellen haben diese Queräste die gleiche Wachstumsrichtung über mehrere Sz-Reihen (Abb. 5 a).

Wanddurchbohrungen konnte ich nur ganz selten feststellen. An solchen Stellen war die Hyphe an der Wandung etwas verdickt. Sobald sie in die Wand eindringt, wird sie zu einem sehr dünnen Faden, um dann in der Nachbarzelle wieder in eine normale Hyphe überzugehen (Abb. 5 b).

Die Hyphen zehren die Sz-Wände allmählich auf. Die verschiedenen Stadien lassen sich im Bast von innen nach außen sehr gut verfolgen: zuerst werden die Sekundärwände abgelöst, und zwar zu Beginn hauptsächlich in den Sz neben den Markstrahlzellen. Oft sieht man die Hyphen geradezu an den losgelösten Wandresten „nagen". In den äußeren Bastregionen liegen vielfach Bündel von zusammengedrängten Wandresten zwischen den Hyphen; schließlich bleiben dann nur noch die Lücken mit den Pilzfäden.

In den Siebzellen findet man verschiedene Erscheinungsformen von Hyphen, besonders in den innersten Schichten stark aufgeblähte Hyphen mit unregelmäßigen Ausstülpungen (Abb. 5 c), Verzweigung oder faserartige Aufspaltung meist auf einem Siebfeld (Abb. 5 d) und einfache, haustorienähnliche

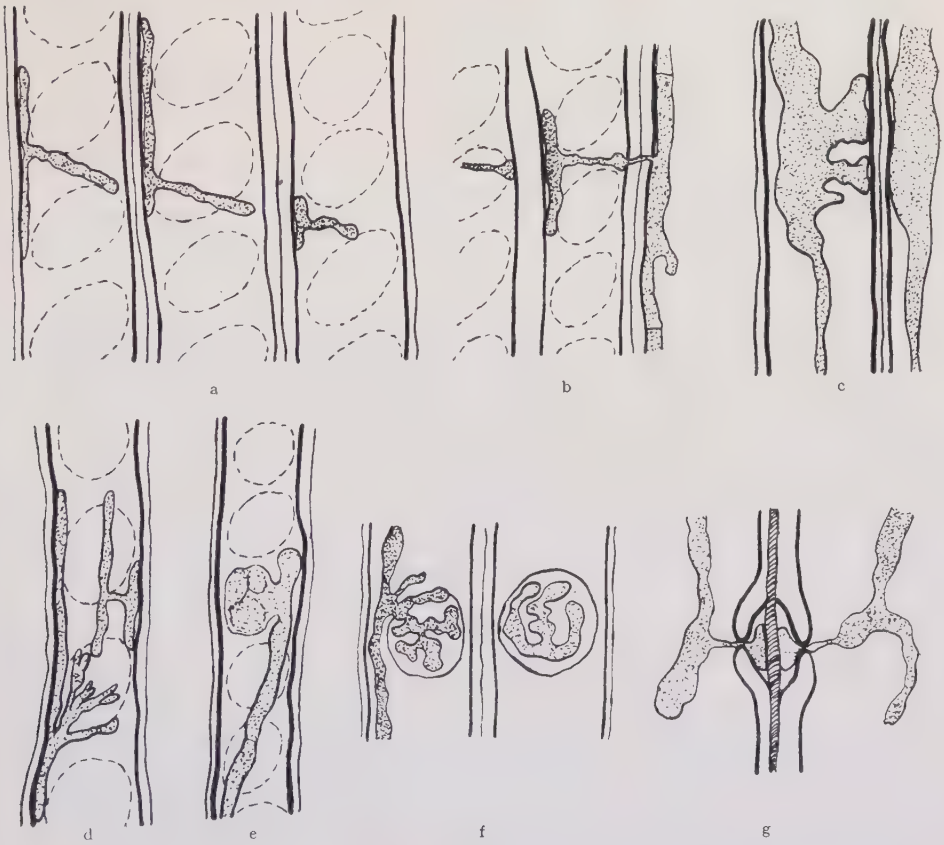


Abb. 5. Hallimasch in Fichtenrinde (halbschematisch). a: Hyphen mit Seitenästen in Sz; Wanddurchbohrung einer Sz; c—e: verschiedene Hyphenformen in den innersten Sz-Schichten; f, g: Durchwanderung eines Tracheidenhoftüpfels in Flächen- und Queransicht. (Alles Radialschnitte, a/b 900fach, c—g 720fach)

Ausstülpungen, die auch im Phasenkontrast einen Lichteffekt wie z. B. die echten Haustorien von *Melampsorella* geben (Abb. 5 e).

An Stelle des Kambiums findet man eine Schicht verharzter Zellen. In fortgeschrittenem Stadium tritt an dieser Stelle die *Rhizomorpha subcorticalis* auf, deren vordringende Spitze auf dem Übersichtsbild (Abb. 2) zu sehen ist. Die schädigende Wirkung eilt hier also voraus. Diese Vergiftung durch „Fernwirkung" toxischer Substanzen gibt auch GÄUMANN (1951, S. 521) an.

Im Holz sind die Hyphen zahlreich in allen Elementen. In den Tracheiden sieht man ähnliche Verzweigungen auf den Tüpfeln wie auf den Siebfeldern des Bastes (Abb. 5 f). Der Torus der Schließhaut scheint ein Hindernis zu bilden, das nicht ohne weiteres durchbrochen bzw. beseitigt werden kann. Die Hyphe verbreitert sich hier meist zu einer Platte, die dem Torus eng anliegt (Abb. 5 g). Ähnliche Plattenbildungen oder Hyphenverdickungen traten auch in den Sz auf, besonders bei Wanddurchbohrungen. Man vergleiche dazu auch die elektronenmikroskopischen Bilder der Hoftüpfeldurchbohrung durch Bläuepilze, welche W. LIESE auf der Botanikertagung 1953 in Hamburg vorgeführt hat.

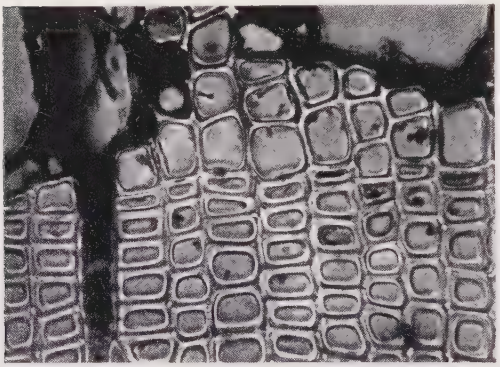


Abb. 6. Fichtenholz mit Hallimasch: In den Tracheiden die dunklen Hyphenquerschnitte. In der zerstörten Markstrahlzelle links oben gabelt sich eine Hyphe (quer, 360fach)

Zwischen den Tracheiden sah ich keine Hyphen; dagegen waren sie im Bereich der Markstrahlen sowohl interals auch intrazellular häufig. Die Markstrahlzellen waren oft von dichtem Mycel erfüllt, teilweise sogar völlig zerstört (Abb. 6).

Das Blasenmycel, das HARTIG (Abb. 1) angibt, konnte ich in meinen Holzpräparaten nicht feststellen. Dagegen zeigten die aufgeblähten Hyphen der inneren Bastschichten ähnliche Bilder.

Die Befunde ergaben, daß der Hallimasch die befallenen Gewebe abtötet und zerstört, ohne daß er sie zuerst schonend ausnützt. Ich wandte mich daher weiterhin der für meine Fragestellung aussichtsreicheren Gruppe der Rostpilze zu.

3. *Cronartium ribicola* und *asclepiadeum* (Rindenblasenrost) in der Weymouthskiefer und der gemeinen Kiefer

a) Bisherige Literatur

Beide Arten leben in der Rinde, seltener auch in den äußersten Holzschichten ihrer Wirtspflanzen. Das Mycel kann in der Rinde viele Jahre perennieren (HARTIG 1900). Nach KÖHLER (1932) stirbt allerdings die jeweils befallene Rindenstelle nach Entleerung der Äcidien in der Regel ab; das Mycel wächst dann in der gesunden Rinde weiter, während die abgestorbenen Stellen verharzen und auf diese Weise einen guten Wundverschluß bilden. Auch GÄUMANN (1951) gibt eine pathologische Harzausscheidung, ähnlich wie beim Hallimasch, an. Nach HARTIG (1874) finden sich die Hyphen interzellulär zwischen allen Elementen der Rinde und auch im Holzkörper, aber dort nicht zwischen, sondern in den Holzfasern. In die Parenchymzellen werden Haustorien entsandt; diese

wandeln den Inhalt der Zellen zu Terpentin um, das sich tropfenweise an den Wandungen niederschlägt und oft zu einer völligen Verkienung der Organe führt. Eine schöne Abbildung solcher Haustorien findet man nach COLLEY (1918) bei GÄUMANN (1951, S. 24).

Jährlich wächst das Mycel im Bast radial und im Kambium weiter. So wird eine Querzone abgetötet, die Stoffzufuhr dadurch abgeschnitten, und deshalb müssen die oberwärts befindlichen Teile absterben (FISCHER und GÄUMANN 1929)*).

b) Eigene Untersuchungen

Untersucht wurden hauptsächlich drei- bis fünfjährige Achsen von Weymouthskiefern (*Pinus strobus*), wo die Äcidien eben hervorbrachen oder aber noch deutlich die Spuren der entleerten Äcidien zu sehen waren (Ende Mai). Ich bemühte mich, besonders die Übergangsstellen von der Infektionsstelle zum gesunden Gewebe zu erfassen. Doch zeigten alle Stellen, in denen man Mycel feststellen konnte, schon starke Schädigungen. Die Wirkung der Hyphen scheint demnach eine sehr schnelle und zerstörende zu sein.

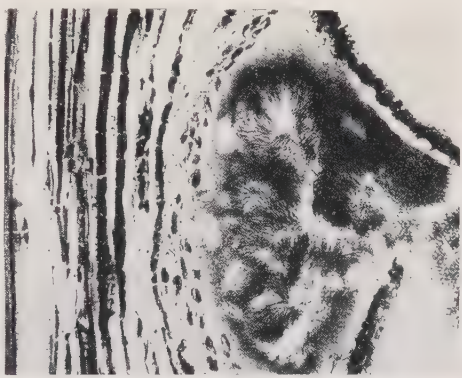


Abb. 7. Weymouthskiefer mit Rindenblasenrost, Übersicht. Aufbrechendes Äcidium; Parenchymzellen stark aufgebläht (dunkel); (rad. längs, 75fach)

Im Übersichtsbild (Abb. 7) fällt die starke Inflation der Parenchymzellen auf. Diese läßt sich bis in die innersten Bastschichten feststellen, während sie in normaler *Pinus*-Rinde erst in der Borke besonders auffällig wird. In den äußeren Schichten sieht man die Hyphen

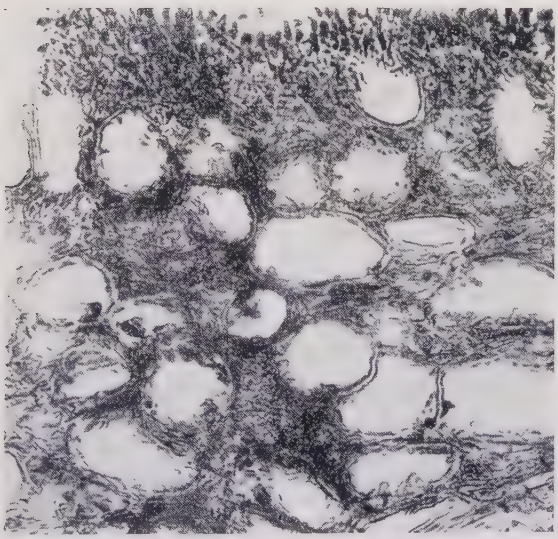


Abb. 8. Weymouthskiefer mit Rindenblasenrost, äußere Rinde; zahlreiche dünne Hyphen drängen die Parenchymzellen auseinander (quer, 200fach)

*) Eine Anzahl Arbeiten über den Weymouthskiefernblasenrost hat TUBEUF gemacht. Sie behandeln aber fast nur die Biologie und den Wirtswechsel, während die anatomische Seite vernachlässigt wird.

meist dicht geknäuelt und die Parenchymzellen auseinanderdrängend (Abb. 8). Sie sind hier relativ dünn; dagegen durchziehen sie die Strangparenchymzellen der inneren Schichten oft als dicke Schläuche (Abb. 9). In diesen Parenchymzellen erkennt man meist noch einen dünnen Plasmabelag, während sie weiter außen und bei fortgeschrittenem Befall zur Verharzung übergehen.

Die Siebzellen sind kollabiert und zeigen stark gewellte Radialwände. Sehr dünne Hyphen laufen entlang der Sz, viele aber auch in den Sz, besonders in den äußeren Schichten des inneren Bastteiles. Häufig sieht man sehr feine Seitenästchen die Wände durchbohren. Beim Passieren der Zellwand schnüren sich die Hyphen plötzlich stark ein, wie ich es auch beim Hallimasch (vgl. Abb. 5 b) beobachten konnte. CARTWRIGHT und FINDLEY (1946) stellten diese Einschnürung auch beim Durchgang durch die Tracheidenwände des Holzes fest. Oft scheinen die bohrerartigen Ästchen zweier längs verlaufenden Hyphen gerade aufeinander zuzuwachsen, eine Brücke zu bilden und zu verschmelzen (Abb. 9), was durch Auflösung der Spitzenwand möglich wäre. Diese Deutung von Bildern wie Abb. 9 b halte ich für wahrscheinlicher, als daß durch die Schnittführung eine bestehende Verbindung abgeschnitten wurde. Die Seitenzweige der Hyphen in den Sz liegen den Innenwänden oft mit einer verbreiterten Platte an. Manchmal sind sie auch zu eigenartigen, klumpenförmigen Gebilden deformiert (Abb. 9 d).

Abb. 9 a—d. Weymouthskiefer mit Rindenblasenrost (halbschematisch). Hyphen in den inneren Sz-Schichten; Verzweigung und Wanddurchbohrung (radial, 900fach). Nähere Erklärung im Text

Auch die Markstrahlzellen werden von den Hyphen befallen. Der Färbung und der relativ gut gewahrten Form nach zu schließen, werden sie jedoch nicht so stark, bzw. erst später geschädigt als die Strangparenchym-

zellen. In Gewebepartien, wo die Parenchymzellen schon stark degeneriert und verharzt sind, zeigen die Markstrahlzellen oft noch deutlich ihre ursprüngliche Gestalt und Farbe. Der Kern ist meist noch zu erkennen. Oft sind die Strangparenchymzellen in der Nachbarschaft der Markstrahlen noch in einem besseren Zustand als die anderen, vom Pilz geschädigten. Das Kambium ist schon in ganz frühen Stadien stark degeneriert; man kann von einem Kambium im eigentlichen Sinne kaum mehr sprechen. Auch hier scheint die schädigende Wirkung, wie beim Hallimasch, den Hyphen vorauszueilen.

In fortgeschrittenen Befallsstadien ist die gesamte Rinde reichlich von Mycelfäden durchwuchert. Zwischen dem stark verharzten Parenchym liegen die eng zusammengeschobenen Sz-Wände, dazwischengepreßt die Pilzhyphen. Durch die Markstrahlen, meist intrazellular in dickeren Hyphen, dringt der Pilz auch in den Holzkörper vor. Häufig wächst er durch die großen Eitüpfel in die Tracheiden, seltener auch zwischen diese. Zum Übergang in eine benachbarte Tracheide wird meist der Hoftüpfel benützt (Abb. 10). (Die Tori färben sich mit der CARTWRIGHTschen Methode wie die Plasmabestandteile blau an. Sie treten gegenüber den blaßroten Tracheidenwänden sehr schön hervor.)

Abb. 10. Weymouthskiefer mit *Cronartium ribicola,* Hyphen in den Tracheiden, Hyphenverzweigung auf zwei Hoftüpfeln; radial 600fach

Bei der Untersuchung von älteren, vernarbten, stark geschädigten Achsen ergibt sich, daß von dem ursprünglichen Zellverband des Bastes und des Kambiums nichts mehr zu sehen ist. An seine Stelle sind die Hyphen getreten, und dazwischen befinden sich nur noch wenige Reste der ursprünglichen Zellen.

Cronartium asclepiadeum in *Pinus silvestris* unterscheidet sich nicht grundsätzlich, sondern nur in einigen Einzelheiten von den für *Cronartium ribicola* mitgeteilten Befunden: Zwischen den aus den tieferen Rindenschichten hervorbrechenden Äcidien sieht man Spermogonien, die zwischen Rindenparenchym und Periderm ein Pseudoparenchym bilden. Die Hyphen darunter wachsen meist nur interzellular. In den Bastschichten laufen die im Vergleich zu *Cronartium ribicola* sehr dicken Hyphen entlang der Sz und um die Strangparenchym- und Markstrahlzellen. Nur selten sieht man sie auch innerhalb der Parenchymzellen. Die seitlichen Ausstülpungen auf den Sz durchbrechen nur ganz vereinzelt die Wände und ragen dann haustorienartig in die Sz.

Ins Holz dringen die Hyphen in den Markstrahlen und an ihnen entlang vor. Von diesen aus drängen sie sich zwischen die Tracheiden und bis in die Markröhre. Der Querschnitt zeigt, daß die Hyphen fast ausschließlich zwischen den Tracheiden bleiben. Sie sind meist so stark zwischen die Wände gepreßt, daß man sie nur bei sehr genauer Betrachtung feststellen kann.

4. *Coleosporium senecionis* in der Kiefernnadel und im Blatt von *Senecio vulgaris*

a) Bisherige Literatur

Coleosporium senecionis lebt mit seiner Äcidienform in den Nadeln verschiedener Kiefernarten. Im April und Mai treten auf den befallenen Nadeln rotgelbe Blasen auf, die Äcidien. Das Mycel entwickelt sich im Innern der Nadel und perenniert dort (KÖHLER). Ohne die Nadel zu töten kann das Mycel im nächsten Jahr nochmals Äcidien hervorbringen. Nach HARTIG (1874) wächst das Mycel interzellular im Palisadenparenchym der Nadeln. Das grüne Blattparenchym wird zwar zusammengepreßt; trotzdem stirbt die Nadel nicht ab. Denn das Parenchym bildet zusammenhängende Querschichten, die nach innen mit dem zentralen Gefäßbündel in unmittelbarem Zusammenhang stehen. Eine chemische Veränderung des Palisadeninhaltes konnte der Autor nicht nachweisen. Die Nadeln sterben nur stellenweise vorzeitig ab; im allgemeinen ist die Schädigung durch das Mycel gering. „In den Nadeln der Kiefer erreicht dasselbe ein höchstens zweijähriges Alter, weil die befallenen Nadeln auch ohne Parasit am Schluß des dritten Sommers absterben und abfallen" (HARTIG 1874, S. 69). So läßt sich für die Wirtspflanze kein bemerkbarer Nachteil feststellen. Nur einige mißfarbige Stellen auf den Nadeln weisen auf die Infektion.

b) Eigene Untersuchungen

Untersucht wurden Kiefernnadeln mit frischen Äcidien und solche, wo eine dunkle Stelle (vernarbtes Äcidium) auf die Anwesenheit des Pilzes hinwies. An meinen Versuchspflanzen konnte ich im Herbst die Narben der Äcidienblasen feststellen. Im nächsten Frühjahr war ein Teil der Nadeln abgefallen, die anderen zeigten wieder frische Äcidien. In bezug auf den Verlauf der Hyphen ergaben die verschiedenen Stadien im Prinzip keine Unterschiede.

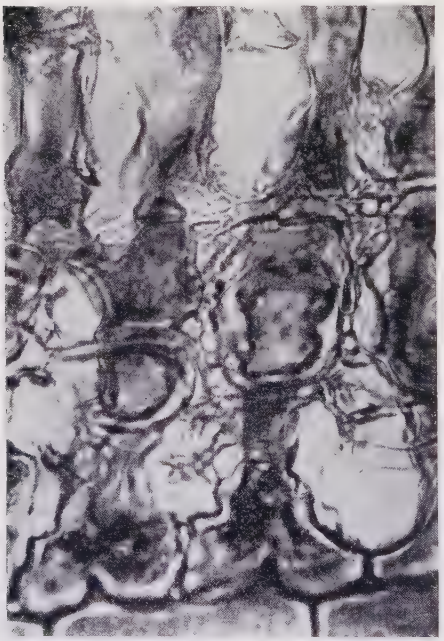


Abb. 11. Kiefernnadel mit *Coleosporium senecionis*. Die Hyphen umspinnen die Palisadenzellen, besonders die inneren. Die Endodermis (unten) ist frei von Hyphen (längs, 600fach)

Bei Quer- und Längsschnitten sieht man die oft sehr starke Wucherung des Mycels im Assimilationsgewebe. An manchen Stellen, wo die Hyphen besonders dicht gedrängt sind, wird die Epi- und Hypodermis emporgehoben. Die Hyphen legen sich eng an die Palisadenzellen an und umspinnen sie. Endodermis und Zentralzylinder sind frei von Hyphen (Abb. 11). Ein Passieren der Endodermis, z. B. durch Auflösung der Mittellamelle, wie GÄUMANN (1951, S. 71) dies für *Lophodermium pinastri*

(Kiefernschütte) beschreibt, konnte ich bei *Coleosporium* nicht feststellen. Die Palisadenzellen werden zwar mehr oder weniger stark zusammengepreßt, scheinen aber durch das Mycel nicht geschädigt. Die Chlorophyllkörner sehen im allgemeinen völlig normal aus; im Stärkegehalt ergibt sich kein Unterschied gegenüber gesunden Vergleichsnadeln. Nur die Stellen direkt unter einer Äcidiennarbe zeigen eine Schädigung, die sich in einer Braunfärbung der Zellen, Zerfall der Chloroplasten und starken Affinität gegen Safranin bemerkbar macht. Der Bereich der Schädigung ist jedoch eng begrenzt und scheint ohne Bedeutung für den Gesamtzustand der Nadel.

Coleosporium senecionis bildet seine Uredo- und Teleutosporen auf *Senecio*-Arten aus. An meinen Versuchspflanzen (*Senecio vulgaris*) konnte ich beobachten, daß sie trotz starkem Befall der Blätter nicht sofort abgetötet wurden. Erst nachdem auch am Stengel die orangeroten Uredolager auftraten, starben die Pflanzen rasch ab.

Schnitte durch Blätter mit Uredolagern zeigten eine Ausbreitung des Mycels im Mesophyll, besonders im Schwammgewebe. Die Leitbündel werden von den Hyphen in frühen Stadien nicht angegriffen. Man bemerkt oft geradezu ein Umkehren vor der Leitbündelscheide. Im Stengel kann man dagegen die Hyphen bald in Gefäß- und Siebteil und ins Mark übergehen sehen.

5. *Melampsorella caryophyllacearum* in Tanne

a) Bisherige Literatur

Durch *Melampsorella caryophyllacearum* werden Krebsbeulen und Hexenbesen bei *Abies*-Arten hervorgerufen (Hexenbesen sind Sprosse, die sich unter dem Einfluß des Pilzmycels abnormal reichlich verzweigt haben). Diese eigenartigen Bildungen haben schon DE BARY (1867) und HARTIG (1882) untersucht und beschrieben. Nach DE BARY ist das Mycel in der Krebsgeschwulst und den Hexenbesen das gleiche. Nur selten finden sich mycelfreie Seitentriebe an den Hexenbesen. Die Nadeln sind fleischig und fallen im Spätherbst oder Winter ab. Die meisten Hexenbesen sollen nach wenigen Jahren absterben. Besonders im Winter sind sie durch das Fehlen der autogenen Winterruhe (FISCHER und GÄUMANN 1929) der Gefahr des Erfrierens stark ausgesetzt. Nach HARTIG gibt es aber auch 20jährige und noch ältere Hexenbesen.

Die Vegetation der Pilzfäden im Gewebe ruft Störungen hervor: z. B. kann das Kambium statt Holzlagen Rindengewebe bilden und umgekehrt. Hexenbesentriebe sind meist dicker als gleich alte gesunde Triebe; denn unter dem Einfluß des Mycels wird das Wachstum ungemein gefördert. Das Rindenparenchym ist etwa doppelt so mächtig wie bei gesunden Sprossen (HARTMANN 1892). Überhaupt werden die parenchymatischen Gewebeteile im allgemeinen besser ausgebildet als die spezifischen Bastelemente (STÄMPFLI 1910). Das Parenchym ist reichlich von Mycelfäden durchwuchert. Sie sind bis in die innerste Bastschicht und ins Kambium zu verfolgen, nicht selten sogar bis in die peripheren Holzelemente. Von den interzellularen Hyphen treten Haustorien ins Innere der Parenchym- und Weichbastzellen (DE BARY). Auch HECK (1894) gibt an, daß die Innenwände der Parenchymzellen von Haustorien „behaart" erscheinen. Er beobachtete außerdem Ketten rhombischer Kristalle, von denen die einreihigen Markstrahlen eingefaßt sind. Die Grenze zwischen pilzbefallenem und gesundem Gewebe ist äußerst scharf.

b) Eigene Untersuchungen

Hexenbesenachsen und Geschwulstrinden verschiedenen Alters wurden untersucht*). Die Rinde ist schwammig und löst sich sehr leicht vom Holz

*) In der Materialbeschaffung ergaben sich oft Schwierigkeiten. Wenn überhaupt Hexenbesen gefunden wurden, waren sie meist in einer nicht erreichbaren Höhe.

ab. Beim Schneiden tritt Harz aus. Von saftfrischer Rinde lassen sich wegen ihrer Nachgiebigkeit, ihrer starken Verharzung und Verschleimung kaum brauchbare Schnitte anfertigen. Eine gute Fixierung vor dem Einbetten ist hier besonders wichtig. Bouin hat sich gegenüber Formol und Alkohol am besten bewährt. Schnitte, die nach der Färbung in ein Polyvinyl-Lactophenol-Gemisch eingeschlossen wurden, ergaben sehr schöne mikroskopische Bilder (vgl. Abschnitt A).

Im Übersichtsbild fallen wiederum die dunklen Parenchymzellen auf. Die starke Färbbarkeit deutet auf eine physiologische Umstimmung hin (Harz- und Schleimbildung). Sklerotische Zellen, die in gesunder Tannenrinde massenhaft auftreten, sind weniger zahlreich vorhanden. In der äußeren Rinde drängen sich die Hyphen oft so eng um die meist sehr stark vergrößerten Parenchymzellen, daß sie oft schwer zu erkennen sind. Allerdings weisen die in großer Zahl auftretenden Haustorien auf den Verlauf der Hyphen hin. Im inneren Bast sind die Hyphen spärlicher und hauptsächlich um die Markstrahlen und Parenchymzellen zu finden (Abb. 12). Haustorien sieht man besonders in den Markstrahlzellen. Diese zeigen oft eigenartige, verzerrte Formen; die Ecken sind häufig zwischen die angrenzenden Sz hineingeschoben. Hier liegt ein Vergleich mit dem gleitenden Wachstum hypertrophierter Zellen nahe, wie es von FISCHER und GÄUMANN bei histioiden Zellen beschrieben wird. In den Markstrahlzellen läßt sich Kern und Plasma meist noch deutlich erkennen.

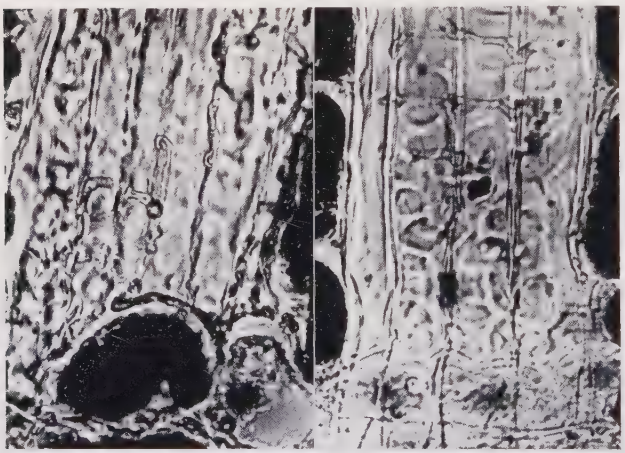


Abb. 12. Tannenhexenbesen, radial, 400fach. Hyphen um Markstrahlzellen (unten) und Sz

Von den Markstrahlen aus wachsen die Pilzfäden zwischen die Siebzellen (Abb. 12), häufiger im Bereich der älteren, kollabierten; in den innersten Bastschichten kann man die Hyphen seltener entdecken. Dort machen sie oft den Eindruck einer mangelhaften Differenzierung. Eine Wandung läßt sich um den unregelmäßig aufgeblähten Inhalt nur schwer erkennen, der sich von dem der Sz kaum unterscheiden läßt. Im radialen Längsschnitt sieht man häufig, wie die Hyphen die Sz überqueren (Abb. 12, 13). Dabei vermeiden sie meist die Siebfelder, indem sie diese umwachsen (Abb. 13 a). Sie bilden auch haustorienartige, zapfen- und fingerförmige Ausstülpungen, die den Sz-Wänden anliegen. Der Längsschnitt erweckt oft den Eindruck, daß die Hyphen auch in den Sz sind; auf dem Querschnitt

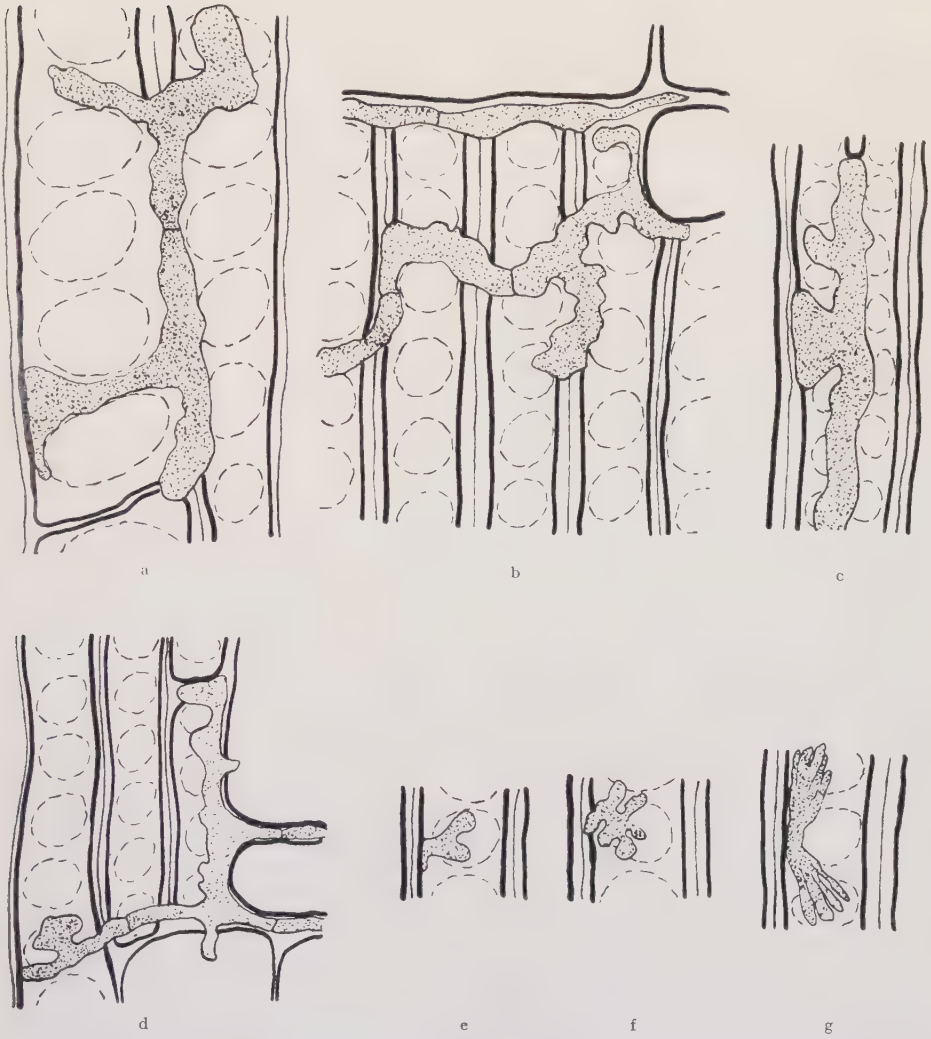


Abb. 13 a—g. Tannenhexenbesen. *Melampsorella*-Hyphen in der inneren Rinde (halbschematisch); a: eine Hyphe umwächst das Siebfeld einer inneren, sehr breiten Sz; b—g: Sz-Überquerung, Ausstülpungen (haustorienartig) und Verzweigungen auf Siebfeld (rad. längs, a: 1350fach, b—g: 900fach). Nähere Erklärung siehe im Text

konnte ich sie aber nie darin feststellen, so daß ich annehmen muß, daß sie in den Siebzellregionen nur interzellular wachsen. Meist sind noch zwei bis vier der jüngsten Sz-Reihen intakt, während in den folgenden Schichten die hellblau gefärbten Kalloseverschlüsse der Siebfelder (nach Färbung mit Pikrinsäure-Anilinblau) deutlich in Erscheinung treten und auf einen Verschluß der Sz hinweisen. Die Sz der innersten Bastschichten haben meist auffallend dicke bzw. gequollene Wände. Nach außen werden

die Wände langsam dünner, in den kollabierten Schichten sind dann schließlich nur noch die Primärwände übrig. Im Kambium sah ich keine Hyphen. Entlang der Markstrahlen wandern sie bis zum Kambium; dagegen sah ich sie nicht ins Holz vordringen.

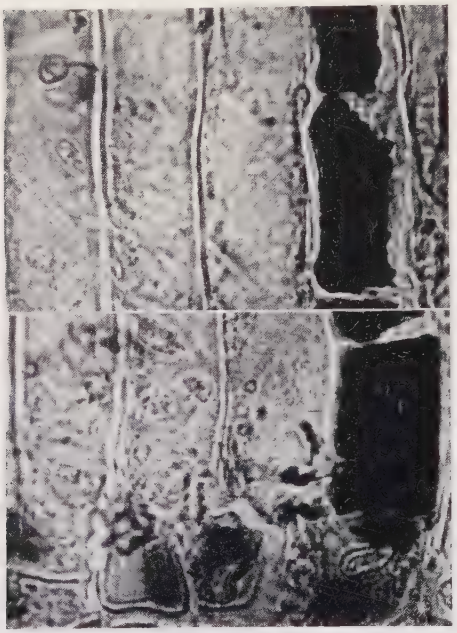


Abb. 14. Tannenhexenbesen, Haustorien, a: auf Sz, b: in Markstrahlzelle (600fach)

6. *Gymnosporangium Sabinae* in Wacholder (*Juniperus pyramidalis*)

a) Bisherige Literatur

Dieser wirtswechselnde Rostpilz veranlaßt Anschwellungen der befallenen Äste und Achsen von Wacholderpflanzen. Die Verdickungen werden durch das perennierende Mycel des Pilzes hervorgerufen. Die Äcidien werden in Blättern verschiedener Pomaceen gebildet (Gitterrost).

Das Mycel bewirkt eine lokale Zuwachssteigerung der Befallsstelle. Das äußere Erscheinungsbild deutet auf keine allzu große Schädigung des Wirtes hin. Nach KÖHLER kann das Mycel viele Jahre in der Nährpflanze ausdauern.

Die anatomischen Veränderungen im Innern der Wirtspflanze hat WÖRNLE (1894) sehr eingehend untersucht. Die Bastschichten, besonders das Bastparenchym, haben sich unter dem Einfluß des Mycels vermehrt. Durch die Aussonderung eines Ferments soll das Kambium zu der starken Parenchymbildung veranlaßt werden. Der übermäßige Verbrauch an Bildungsstoffen für die Bast- und Rindenschwellung (und meiner Ansicht nach auch für die Ernährung des Mycels) erklärt die relativ dünnwandigen Holzelemente. Nach HARTIG werden unter dem Einfluß des Mycels auch nur dünnwandige Bastfasern gebildet. Die Markstrahlen zeigen starke Wucherungen. KÖHLER beschreibt die Hyphen als interzellular. Teilweise finden sich auch in den Zellen Haustorien. Da sich die Hyphen interzellular ausbreiten, kommt die Ausbreitung zum Stillstand in Geweben mit wenig Interzellularräumen, also in den Gefäß- und Bastbündeln. WÖRNLE gibt ebenfalls an, daß das Mycel nur schwer in die inneren Schichten des Bastes vordringt. (Ein Vordringen in interzellularenarme Gewebe wäre möglich durch Auflösung der Mittellamellen. Diese Art der Ausbreitung wird für andere Pilze beschrieben, vgl. Abschnitt 4 b.) HARTIG gibt besonders harmlose pathologische Erscheinungen für eine russische Form von *Juniperus* an. Ein Absterben sei hier nur äußerst selten. Er sieht den Grund hierfür in der starken Benadelung dieser Art.

b) Eigene Untersuchungen

Das Untersuchungsmaterial bestand hauptsächlich aus sechsjährigen Wacholderpflanzen mit verschieden starken Anschwellungen an Achse und Ästen.

Das Übersichtsbild zeigt in den äußeren Rindenpartien teilweise Lücken und überhaupt eine Lockerung des Gewebeverbandes. Die inneren Schichten dagegen machen einen fast normalen Eindruck. Der für die *Cupressaceen* so

charakteristische Vierer-Rhythmus (Sz, Parenchymzellen, Sz, Bastfasern usw.) ist deutlich erkennbar. Bei genauer Betrachtung sieht man das Pilzmycel in der äußeren Rinde stark wuchern. Durch die interzellularen Hyphen werden die meist etwas hypertrophierten Parenchymzellen auseinandergedrängt, aber nur teilweise so stark, daß Lücken entstehen. In den tieferen Schichten legen sich die Hyphen so eng an die Zellen, besonders die Parenchymzellen, daß sie keine auffällige Störung des Gewebes verursachen (Abb. 15). Zum Eindringen in die inneren Bastschichten werden die Markstrahlen bevorzugt, die oft in vermehrter Anzahl gebildet sind. Eng an die Markstrahlzellen geschmiegt, wandern die Hyphen bis nahe ans Kambium. Sie bilden häufig kleine, nasenartige Vorwölbungen, die aber die Zellwand nicht durchbohren (Abb. 16).

Abb. 15. Wacholder mit *Gymnosporangium*-Hyphen, innerer Bast. Die Hyphen (Querschnitte) zwischen den Wirtszellen eingepreßt. Oben: dickwandige Frühbastfasern (quer, 800fach)

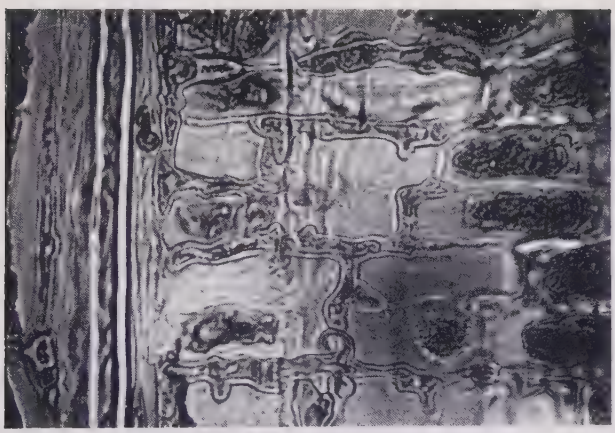
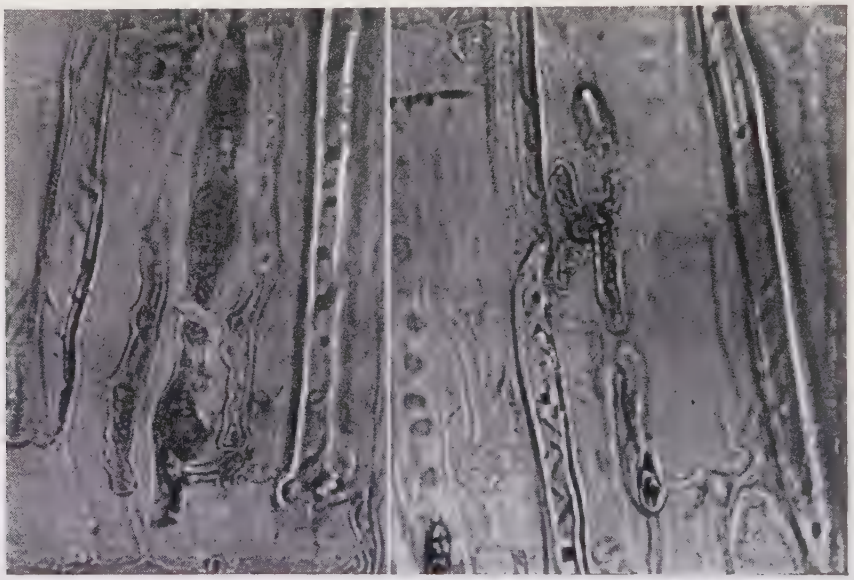


Abb. 16. Wacholder mit *Gymnosporangium*-Hyphen. Ausstülpungen gegen die Markstrahlzellen. (Von links nach rechts: Parenchymzellen, Sz, Bastfaser, dann Markstrahl) (radial, 500fach)

Der Inhalt dieser umwachsenen Zellen ist häufig gegenüber den anderen reduziert. Von den Markstrahlen aus drängen sich die Pilzfäden zwischen die Sz, Parenchymzellen und seltener auch die Bastfasern (Abb. 17). Oft sieht man seitliche Ausstülpungen, die sich nach Art von Appressorien an die Wände der Sz

anlegen (Abb. 17b). Solche Bilder erinnern stark an die von SCHUMACHER für *Cuscuta* gegebenen und lassen eine Nutzung des Assimilatstromes vermuten, was aber noch durch Fluoresceinversuche endgültig zu beweisen wäre.

Auch gegen die Parenchymzellen werden solche haustorienartigen Auswüchse gebildet. In keinem der Schnitte beobachtete ich jedoch eine Wanddurchbrechung. In Richtung der Fasern sind die Vorwölbungen der Hyphen sehr spärlich zu finden. Die Bastfasern haben bis zum Kambium die dem Jahresrhythmus entsprechenden, normalen Verdickungen. Im Kambium sah ich keine Hyphen. Das bevorzugte Wachstum um die Markstrahlzellen war in allen Fällen deutlich erkennbar. Doch konnte man ein Vordringen in die Markstrahlen des Holzes nur selten feststellen.



a b

Abb. 17. Wacholder mit *Gymnosporangium*. Innerer Bast, radial 650fach. a: Von den Markstrahlzellen (unten) wachsen die Hyphen zwischen Strangparenchym- und Sz; b: „Appressorium" auf Sz (neben erster Faser von links)

C. Diskussion

Die durch verschiedene Pilze verursachten Rindenkrankheiten zeigen bei oberflächlicher Betrachtung ein sehr ähnliches Bild. Die genaue mikroskopische Untersuchung ergibt jedoch Unterschiede, die bis in die feinsten Differenzierungen zu verfolgen sind. In den meisten Fällen ist das Endstadium einheitlich: Abtötung, Verharzung und Absterben befallener Gewebe bzw. der ganzen Pflanze. Doch wie die Befallsstadien im einzelnen sehr verschieden sind, so ist die Zeitspanne zwischen Befall und Tod sehr unein-

heitlich. Abgesehen vom Alter bzw. Umfang der Bäume kommt diese Diskrepanz durch die mehr oder weniger starke Abwehrkraft oder die „vorsichtige" Ausnützung durch die Pilze zustande.

Der unterschiedliche Befall der Gewebe der Wirtspflanzen wird einerseits durch die Abwehrkraft der Wirtspflanze, andererseits durch die anatomische Spezialisierung der Pilze verursacht. In manchen Fällen läßt sich eine gewebespezifische Ausbreitung schon makroskopisch feststellen. (Die Blaufäule nur im Splint, die Rotfäule im Kernholz.) Mikroskopisch ergibt sich eine solche Spezialisierung z. B. bei den Mehltaupilzen: Diese haften an der Oberfläche und dringen mit Haustorien in die Epidermiszellen ein. Eine ausgeprägte anatomische Spezialisierung zeigen auch die Mykorrhizenpilze: Sie wachsen ausschließlich in der primären Wurzelrinde, dringen also nie durch die Endodermis in den Zentralzylinder ein. Obwohl die Mykorrhizenpilze ausgesprochene Rindenparasiten bzw. -symbionten sind, habe ich sie in dieser Arbeit nicht näher untersucht, da auf diesem Gebiet bereits eindeutige Ergebnisse und Abbildungen vorliegen (Burgeff, Melin u. a. m.). Die Rostpilze bevorzugen assimilierendes, nicht verholztes Grundgewebe, also besonders die primäre und sekundäre Rinde und das Kambium, in den Blättern das Mesophyll. So konnte ich z. B. die Hyphen von *Coleosporium* nur im grünen Assimilationsparenchym der Kiefernnadel feststellen. Das Mycel von *Melampsorella* und *Gymnosporangium* vegetiert fast ausschließlich in der Rinde; nur selten dringt es in die Markstrahlen des Holzes vor. Die Hyphen von *Cronartium* wachsen dagegen nur in frühen Befallsstadien bevorzugt in der Rinde; dann gehen sie in alle Elemente des Holzes über.

Den einzelnen Rindenelementen gegenüber zeigen die Rostpilze ein unterschiedliches Verhalten: Zwar bevorzugen *Melampsorella, Gymnosporangium* und *Cronartium* die Parenchymzellen; besonders die Markstrahlzellen werden von einem dichten Hyphennetz umsponnen. Während aber *Melampsorella* und *Cronartium* Haustorien in die Parenchymzellen entsenden, bildet *Gymnosporangium* nur Ausstülpungen, die sich den Zellwänden von außen anlegen, die Wände also nicht durchbrechen.

Gegenüber den Siebzellen zeigen *Melampsorella, Gymnosporangium* und *Cronartium asclepiadeum* ein rein interzellulares Wachstum. Lappige oder keulenförmige Ausstülpungen werden zwar gebildet, aber nur außen auf die Zellwand gelegt. Die Hyphen von *Cronartium ribicola* dagegen wachsen sehr häufig auch innerhalb der Sz und durchbohren die Sz-Wände mit dünnen Seitenästchen.

Es erhebt sich hier die Frage nach der Bedeutung der Haustorien. Nach Gäumann 1951 (S. 430) sind diese keine vom Pilz gewollten Organe, sondern ein ihm durch die Abwehrreaktionen der Wirtszellen aufgezwungenes Verstümmelungsprodukt. Nur unter der Reaktion der lebenden Wirtszelle tritt diese Deformation ein. Solange die Hyphen interzellular wachsen, sind sie normal. Die ins Innere eindringenden Seitenäste dagegen werden zu Haustorien oder Knäueln deformiert und stellen ihr Wachstum ein. De Bary unterscheidet beim Hexenbesen der Weißtanne zwei Arten von Haustorien: Ins Innere der Parenchym- und Weichbastzellen werden Ästchen geführt. Sie durchbohren die Membranen, verändern das normale Aussehen der Zellen aber nicht. In den geräumigen Zellen des primären Parenchyms sind die Ästchen gekrümmt, zylindrisch oder keulenförmig, einfach oder in

Zweige geteilt, die zu einem kleinen Knäuel unregelmäßig zusammengekrümmt sind. Die zweite Art findet sich hauptsächlich in den Zellen des Weichbastes, der Bastmarkstrahlen und der Kambiumschicht. Diese kurzen, keulenförmigen Ästchen durchbohren die Zellwand meist nicht, sondern stülpen sie nur tief nach innen. Von dem eingestülpten Membranstück werden sie wie von einer dicken, glänzenden Scheide umkleidet. TISCHLER (1912) beschreibt bei *Uromyces pisi* in *Euphorbia cyparissias* eine Haustorienbildung erst in den alternden Geweben. In den Gefäßen selbst fand er die Hyphen nur als Raumparasiten. Höchstens werden in nicht befallene Gefäße manchmal durch die Tüpfel Haustorien entsendet, die sich büschelförmig verzweigen.

Die Haustorienbildung steht in engem Zusammenhang mit der Ernährung der Hyphen bzw. Ausbeutung des Wirtes durch die Parasiten. Nach TISCHLER werden Haustorien nur in Zellen mit Vakuolen gebildet, was er als Zeichen der Bevorzugung des Vakuoleninhaltes betrachtet. Das Fehlen von Haustorien in den *Uromyces pisi*-befallenen Gefäßen von *Euphorbia cyp.* erklärt er dadurch, daß offenbar allseits in den Gefäßen genügend Nährstoffe zur Verfügung stehen und deshalb die einseitige Reizung, die für die Haustorienbildung verantwortlich gemacht wird, fehlt. GÄUMANN sagt, daß die Haustorien zwar der Nahrungsaufnahme dienen, daß sie aber zu Unrecht als ad hoc gebildete Saugorgane gehalten werden. Doch möchte ich annehmen, daß eine sehr starke Haustorienbildung (z. B. bei *Melampsorella*) auf eine gesteigerte Ausbeutung des Wirtes hinweist, wenn sie auch für die Ernährungsfrage an sich nicht von entscheidender Bedeutung sein muß. Das Abbrechen des dünnen Verbindungsfadens zwischen Hyphe und Haustorium, das ich manchmal beobachtete, kann einerseits durch die Schnittführung verursacht werden, andererseits könnte es vielleicht auf eine Abtrennung der Hyphe von ihrem „Verstümmelungsprodukt" hindeuten.

Nach GÄUMANN ernähren sich die Hyphen nicht nur aus dem Material der unmittelbar invadierten Wirtszellen, sondern überdies von Nährstoffen, die aus den Nachbarzellen herandiffundieren. Zur Ernährung ist also ein Eindringen in die Zellen nicht notwendig. Der *Lolium*-Pilz z. B. bildet überhaupt nie Haustorien. Auch bei den parasitischen Samenpflanzen unterbleibt ein direkter Anstich der Siebröhren, wie es z. B. bei Insekten beobachtet wird (HUBER 1942), und doch erfolgt eine Überleitung der Assimilate. So saugen sich die Haustorialschläuche von *Cuscuta* an den Siebröhren der Wirtspflanze fest und stellen auf diese Weise eine direkte Verbindung zum Saftstrom des Wirtes her (SCHUMACHER). Solch eine raffinierte Ausbeutung der laufenden Produktion kannte man bei den parasitischen Pilzen bisher nicht. Von den meisten parasitischen Pilzen wird das Wirtsgewebe abgetötet und durch die Ausbeutung zum Schaden des Pilzes zerstört, wie wir bei *Armillaria* und *Cronartium* gesehen haben. Die Tatsache, daß beide Parasiten mehrere Jahre lang im Baum wachsen können, ohne ihn abzutöten, erklärt sich nicht aus einer rationellen, schonenden Ausbeutung, sondern der Pilz wächst in den gesunden Geweben weiter, während die abgetöteten verharzen und somit einen Wundverschluß bilden.

Im Gegensatz dazu können *Melampsorella* und *Gymnosporangium* jahrelang im gleichen Gewebe wachsen, ohne dieses erheblich zu schädigen. Hier ist eine Ausnützung der laufenden Produktion des Wirtes sehr wahrscheinlich. Die Ausstülpungen, die von den Pilzhyphen gebildet werden, deuten auf die Tendenz einer möglichst nahen Verbindung zu den umwachsenden Zellen hin. Vielleicht kann man bei diesen Parasiten gerade die Tatsache als besondere „Raffinesse" betrachten, daß sie die Siebzellen nicht verletzen (wie z. B. *Armillaria* und

Cronartium bei ihrer starken Zerstörungstätigkeit), sondern sie nur von außen her auszunützen verstehen. Ob und in welchem Ausmaß dies wirklich geschieht, sollte noch durch direkte physiologische Versuche festgestellt werden: Durch Anfärbung mit Fluorescein ließe sich wohl wie bei *Cuscuta* der Übertritt von Stoffen aus den Siebzellen in die Hyphen unmittelbar beobachten und beweisen. Leider war es mir infolge äußerer Umstände (u. a. Materialschwierigkeiten) nicht mehr möglich, diese vielversprechenden Versuche zur Vervollständigung der Untersuchungsergebnisse auszuführen. Ich möchte aber nicht versäumen, diese sicher sehr aufschlußreichen und reizvollen Versuche anzuregen[1]).

Auch bei den *Coleosporium*-Hyphen in der Kiefernnadel möchte ich eine Ausnützung der laufenden Produktion mit Sicherheit annehmen: Die Palisadenzellen werden von zahlreichen Hyphen umsponnen und zusammengepreßt, zeigen aber keine auffällige Schädigung. Auch bei der Untersuchung rostbefallener Weißtannennadeln konnte ich die Hyphen nur interzellular zwischen den Palisadenzellen beobachten. Ein Passieren der Endodermis wurde in beiden Fällen nicht festgestellt. Während aber die Tannennadel bald gebräunt wird und abstirbt, wird die Kiefernnadel im allgemeinen n i c h t vorzeitig abgeworfen. Hartig (1874) führt dies auf die anatomischen Unterschiede im Nadelbau zurück. Bei *Pinus* bildet das Palisadenparenchym zusammenhängende Querschichten, die nach innen mit dem anstoßenden Gefäßbündel in ununterbrochenem Zusammenhang stehen. Der Tannennadelquerschnitt dagegen zeigt Lücken zwischen den einzelnen Palisadenreihen. Dem Erscheinungsbild nach möchte man der mit *Coleosporium* befallenen Pinusnadel eine vieljährige Lebensdauer zuschreiben. Es ist aber schwierig, dies zu beweisen, da die Kiefernnadel in der Regel nur zwei bis drei, seltener fünf Jahre alt wird (Neger und Münch 1952). Die Schonung der Gefäßbündel könnte auf eine Schutzwirkung der Endodermis zurückgeführt werden; ähnliches gilt vielleicht auch für die Stärkescheide im Blatt von *Senecio*. Diese Fragen führen in die Probleme der Ausbreitungsresistenz, die verschiedene Forscher zu erklären versuchten. Eine Zusammenstellung dieser Probleme finden wir in Gäumanns „Pflanzlicher Infektionslehre" im Kapitel über die Ausbreitungsresistenz.

Man sieht aus den angeführten Beispielen, wie verschieden sich jeder einzelne Fall eines parasitischen Verhältnisses gestalten kann. Bei manchen Rostpilzen ist man sogar versucht, an eine Art von Symbiose zu denken; die Rostpilze können ja bis jetzt noch nicht künstlich kultiviert werden, was auf eine besonders enge Bindung ans Leben hindeutet. Bei *Uromyces pisi* ist das Zusammenleben der durch den Pilz umgeformten Blattzellen von *Euphorbia* mit den Haustorien ein so friedliches, daß Tischler direkt von den beiden „Symbionten" spricht, die aufeinander angepaßt sind. Auch beim Tannen-

[1]) Nach Abschluß meiner Promotion bemühte ich mich unter freundlicher Anleitung von Herrn Dozenten Dr. L. Bauer leider vergeblich um den Nachweis einer Fluoreszeinwanderung vom Wirt in den Pilz: Es gelang bei *Juniperus* trotz wiederholter Versuche zu verschiedenen Tageszeiten nicht einmal, das Fluoreszein auch nur zur Einwanderung in die Siebzellen zu bringen.

hexenbesen scheint der Parasitismus mehr auf die Seite der Symbiose zu neigen, allerdings nicht in dem Sinne, daß auch der Wirt einen Nutzen vom Pilz hätte; denn die Bildung von Hexenbesen kann man kaum als Vorteil für die Tanne betrachten. Vielleicht führt in diesen Fragen die Beobachtung von Gewebekulturen weiter, nachdem HOTSON die Züchtung von *Gymnosporangium juniperi-virginianae* auf Kalluskulturen von *Juniperus virginiana* gelungen ist.

Auf eine grundsätzliche, die Grenzen zur Philosophie berührende Erörterung, ob es echte Symbiose, fremddienliche Zweckmäßigkeit überhaupt gibt oder bestenfalls einen ausbalancierten beiderseitigen Parasitismus mit Gleichgewicht der Kräfte, möchte ich mich hier nicht einlassen. Zu diesen Fragen haben sich Berufenere auf Grund viel umfassenderen Materials geäußert (HARTIG, GÄUMANN, MELIN u. a., letzte Literaturzusammenfassung bei SCHAEDE 1948).

Die Veränderungen, die durch die Einwirkung der Pilzhyphen in der Rinde hervorgerufen werden, ergeben unter Umständen interessante Beziehungen zu den normalen Alterungserscheinungen gesunder Rinden. Prozesse, wie z. B. der Siebröhrenkollaps, der normalerweise mit dem ersten Blattfall eintritt, bei den Nadelhölzern erst nach mehreren Jahren (HUBER 1939), werden durch die Pilze beschleunigt. Die häufig beobachtete starke Parenchymzellinflation in der pathologischen Rinde wird auch in gewissen Stadien der gesunden Rinde festgestellt. Die auffällig dicken, gequollenen Wände der innersten Siebzellen der Hexenbesenrinde werden vermutlich durch chemische Umwandlung bzw. Herauslösung gewisser Membransubstanzen, hervorgerufen (die Pilze haben die Fähigkeit, durch Enzyme eine Hydrolyse der Zellulose zu verursachen, wie CARTWRIGHT und FINDLEY 1946 bei der Holzzersetzung festgestellt haben). Die Quellung der Sz-Wände wird nach einer mündlichen Mitteilung HOLDHEIDES auch in gewissen Stadien der Alterung normaler Rinden beobachtet; ebenso auch ein Losreißen kollabierter Siebröhrenkomplexe von den umgebenden Parenchymzellen, wie es die Hallimaschhyphen in der Fichtenrinde bewirken. Bei *Robinia* ist diese Erscheinung besonders deutlich (HOLDHEIDE 1951). Es wird zuerst die Aufgabe der normalen Anatomie sein, die sekundären Veränderungen der Rinden in ihren komplizierten Mechanismen endgültig klarzustellen, bevor wir die pathologischen Erscheinungen mit Sicherheit erfassen können.

Kurz zusammengefaßt, möchte ich die Frage der Ausbeutung des laufenden Assimilatstromes für einige Vertreter der Uredineen (*Coleosporium, Melampsorella, Gymnosporangium*) bejahen. Besonders zeigten die Verhältnisse bei *Gymnosporangium* solche Ähnlichkeit mit denen bei *Cuscuta*, daß ich die von SCHUMACHER bei *Cuscuta* bewiesene Überleitung des Assimilatstromes auch für *Gymnosporangium* annehmen möchte.

D. Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Die Hallimaschhyphen befallen zuerst nur die Rinde, wo sie bevorzugt innerhalb der Sz wachsen. Durch Auflösung der Sz-Wände entstehen in späteren Stadien Lücken zwischen den stark geschädigten

und verharzenden Parenchymzellen. Die Schädigung des Gewebes geht dem Hyphenwachstum voraus. Das Wachstum der Hyphen hat dann die Verharzung und Abtötung der befallenen Gewebe zur Folge. Von der Rinde dringen die Hyphen auch ins Holz vor und zersetzen dieses in analoger Weise, wie die Rinde.

2. Die Hyphen von *Cronartium* bevorzugen die Parenchym- und Markstrahlzellen, die sie teilweise mit Haustorien befallen. *Cronartium ribicola* wächst häufig auch innerhalb der Sz, deren Wände mit zahlreichen, feinen Seitenästchen durchbohrt werden. Die schädigende Wirkung geht dem Hyphenwachstum voraus und macht sich besonders in einer Degeneration des Kambiums bemerkbar. In späteren Stadien verharzt das gesamte Rindengewebe und stirbt ab. Die Hyphen breiten sich im Holz weiter aus und gehen von den Markstrahlen sowohl zwischen als auch in die Tracheiden. Die Hyphen von *Cronartium asclepiadeum* bleiben fast nur zwischen den Tracheiden.
3. Die *Coleosporium*-Hyphen wachsen nur im Assimilationsparenchym der Kiefernnadel; die Leitbündel werden nicht befallen. Auch im Blatt von *Senecio* werden die Leitbündel zuerst geschont.
4. *Melampsorella* und *Gymnosporangium* beschränken ihr Wachstum im allgemeinen auf die Rinde. Bevorzugt werden Parenchym- und Markstrahlzellen. Die *Gymnosporangium*-Hyphen umwachsen diese nur interzellular und bilden nur Ausstülpungen, die die Zellwände nicht durchbrechen. Dagegen fällt bei *Melampsorella* die starke intrazellulare Hausterienbildung auf. Im Bereich der Sz bleiben die Hyphen dieser beiden Rostpilze interzellular mit Ausstülpungen, die von außen den Sz angelegt werden. Im Bereich der lebenden Safthaut werden die Hyphen spärlicher und hauptsächlich um die Markstrahlen festgestellt. Die Befunde machen eine Ausbeutung des Assimilatstromes sehr wahrscheinlich.
5. Bei den drei letztgenannten Gattungen ist eine Ausbeutung der laufenden Assimilationsprodukte mit großer Wahrscheinlichkeit anzunehmen.

E. Literaturverzeichnis

1. Bary, A. de, 1867: Über den Krebs und die Hexenbesen der Weißtanne. Bot. Ztg. (Leipzig) **25**, 273.
2. Bavendamm, W., 1951: Mikroskopisches Erkennen und Bestimmen von holzbewohnenden und holzzersetzenden Pilzen. Hb. d. Mikrosk. i. d. Techn. 5/II, 817.
3. Burgeff, H., 1934: Symbiose. Handwörterbuch d. Naturw., 2. Aufl. **9**, Jena.
4. Cartwright, K., 1929: A satisfactory method of staining fungal mycelium in wood sections. Ann. Bot. (London) **43**, 412.
5. — — and Findley, W., 1946. Decay of Timber and its Prevention. London.
6. Evert, K., 1950: Untersuchung des Prozesses der Schädigung von Getreidearten durch Staubbrand mittels der Phasenkontrastmikroskopie. Dokl. Akad. Nauk. SSSR. N. S. **71**, 775 (russisch).
7. Fischer, E. und Gäumann, E., 1929: Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze. Jena.
8. Frey-Wyssling, A., 1952: Kontrasteffekt dicker Objekte im Phasenmikroskop. Naturwissenschaften **39**, 145.

9. Ganz, E., 1944: Das Phasenkontrastverfahren nach Zernicke zur Untersuchung ungefärbter Präparate. Vjschr. naturf. Ges. (Zürich) **89**, 268.
10. Gäumann, E., 1926: Vergleichende Morphologie der Pilze. Jena.
— —, 1951: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl., Basel.
11. Hartig, R., 1874: Wichtige Krankheiten der Waldbäume. Berlin.
12. — —, 1878: Die Zersetzungserscheinungen des Holzes der Nadelhölzer und der Eiche. Berlin.
13. — —, 1882: Lehrbuch der Pflanzenkrankheiten. Berlin (3. Aufl. 1900).
14. Hartmann, F., 1892: Anatomische Vergleichung der Hexenbesen der Weißtanne mit den normalen Sprossen derselben. Diss. Freiburg i. B. (referiert in Beih. Bot. Cbl. **3**, 1893, 60).
15. Heck, C., 1894: Der Weißtannenkrebs. Berlin.
16. Heinze, K., 1952: Polyvinylalkohol-Lactophenol-Gemisch als Einbettungsmittel für Blattläuse. Naturwiss. **39**, 285.
17. Holdheide, W., 1951: Anatomie mitteleuropäischer Gehölzrinden. Handb. d. Mikrosk. i. d. Techn. **5/I**, 193.
18. Holz, W., 1936: Zur Färbung des Mycels von *Fusicladium dendriticum* in Apfelblättern. Cbl. f. Bakt. **94**, 195.
19. Hotson, H. H., 1953: The growth of rust in tissue culture. Phytopathology **43**, 360.
20. Huber, B., 1939: Das Siebröhrensystem unserer Bäume und seine jahreszeitlichen Veränderungen. Jb. wiss. Bot. **88**, 176.
21. — —, 1942: Die Siebröhren der Pflanzen als Nahrungsquelle fremder Organismen und als Transportbahnen von Krankheitskeimen. Biol. gen. **16**, 310.
22. Janke, D.: 1951: Zum fluoreszenzmikroskopischen Nachweis von Pilzen in der menschlichen Hornschicht. Klin. Wschr. **29**, 326.
23. Kisser, J., 1939: Die botanisch-mikrotechnischen Schneidemethoden. Abderh. Handb. d. biol. Arbeitsmeth. **11/IV**, 391.
24. Kligman, A. and Mescon, H., 1950: The periodic-acid-Schiff stain for the demonstration of fungi in animal tissues. J. of Bact. **69**, 415.
25. Köhler, E., 1932: Uredinales. Sorauer, Handb. d. Pflanzenkrankh. **3**, 1, Berlin.
26. Küster, E., 1925: Pathologische Pflanzenanatomie. Jena 1903; 3. Aufl.
27. Liese, W., 1953: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an verblautem Kiefernholz. Ber. d. Drsch. Bot. Ges. **66**, 427.
28. Melin, E., 1925: Untersuchungen über die Bedeutung der Baummykorrhiza. Jena.
29. Münch, E., 1932: Hymenomyceten. Sorauer, Handb. d. Pflanzenkrankh., **3/II**, 297.
30. Neger, W. und Münch, E., 1952: Die Nadelhölzer. 4. Aufl. Berlin.
31. Pechmann, H. v. und Schaile, O., 1950: Über die Änderung der dynamischen Festigkeit und der chemischen Zusammensetzung des Holzes durch den Angriff holzzerstörender Pilze. Forstwiss. Cbl. **69**, 441.
32. Romeis, B., 1948: Mikroskopische Technik. München.
33. Schaede, R., 1948: Die pflanzlichen Symbiosen. Jena.
34. Schneider, H., 1922: Die Botanische Mikrotechnik. Jena.
35. Schumacher, W., 1934: Die Absorptionsorgane von *Cuscuta odorata* und der Stoffübertritt aus den Siebröhren der Wirtspflanze. J. wiss. Bot. **80**, 74.
36. — — und Halbsguth, W., 1938: Über den Anschluß einiger höherer Parasiten an die Siebröhren der Wirtspflanzen. Jb. wiss. Bot. **87**, 324.
37. Sperlich, A., 1925: Die Absorptionsorgane der parasitischen Samenpflanzen. Handb. d. Pflanzenanat. **9/II**, Berlin.
38. Strasburger, E. usw., 1951: Lehrbuch der Botanik für Hochschulen. 25. Aufl., Stuttgart.
39. Stämpfli, R., 1910: Untersuchungen über die Deformationen, welche bei einigen Pflanzen durch Uredineen hervorgerufen werden. Hedwigia **49**, 230.
40. Tischler, G., 1912: Untersuchungen über die Beeinflussung der *Euphorbia cyparissias* durch *Uromyces pisi*. Flora (Jena) **104**, 1.
41. Wörnle, P., 1894: Anatomische Untersuchung der durch *Gymnosporangium*-Arten hervorgerufenen Mißbildungen. Forstl. nat. Z. **3**, 68/129.

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung,
Abteilung für Pflanzenbau und Züchtungsbiologie, Neuhof bei Gießen

Die phänophasisch bedingte Typenresistenz der Erbsensorten gegen den Erbsenwickler (*Grapholitha nigricana* Steph., = *Laspeyresia [Cydia] nigricana* Steph.)

Von

A. Scheibe

Mit 5 Abbildungen

In seinen grundlegenden Untersuchungen hat R. Langenbuch (1, 2, 3) den Nachweis erbracht, daß in Deutschland unter den drei in Frage stehenden Erbsenwicklerarten *Grapholitha nigricana* Steph., *Gr. nebritana* Tr. und *Gr. dorsana* F. die erstgenannte Art die entscheidende Rolle spielt. Demnach hat *Grapholitha nigricana* Steph. für weite Gebiete Deutschlands als die Erbsenwicklerart zu gelten.

Des weiteren konnten Langenbuch (3) für deutsche sowie Wright und Geering (7) für die Verhältnisse in Ostengland auch die Biologie dieses Schädlings weitgehend aufklären. Für die Problematik der Resistenzzüchtung ergeben sich hieraus sehr wesentliche Hinweise. Danach beginnt in Mitteldeutschland der Falterflug je nach herrschender Witterung Ende Mai oder Anfang Juni, um — gleichfalls entsprechend den Witterungsbedingungen — etwa Mitte bis Ende Juni seinen Höhepunkt zu erreichen. Damit fällt aber die Gradation des Falters praktisch mit der Hauptblütezeit der Erbsenbestände zusammen. Auch die schon lange umstrittene Frage nach dem Ort der Eiablage fand hinreichende Aufklärung. Nach den übereinstimmenden Befunden von Langenbuch und Wright und Geering bringt der Falter seine Eier (in der Regel nur als Ein-Eigelege) überwiegend an den Blättern, und zwar vornehmlich auf der Unterseite von Fieder- und Nebenblättern und nur zum geringen Teil an den Kelchblättern oder unmittelbar an jungen Hülsen zur Ablage. Vor der Sonneneinstrahlung gegen Austrocknung geschützt und offenbar durch die Transpirationsfeuchtigkeit der Blattunterseite gefördert, vollzieht

sich innerhalb weniger Tage das Schlüpfen der Jungräupchen, die nächsten Weges der Blütenregion zustreben. Hier bohren sie sich in die jungen Hülsen ein, zumeist in der Nähe der Rückennaht. Ob ein bestimmtes und welches Entwicklungsstadium der Hülsen hierbei bevorzugt wird, läßt sich aus der Darstellung der obengenannten Autoren nicht eindeutig entnehmen. Auf Grund der eigenen, weiter unten wiederzugebenden Befunde ist aber anzunehmen, daß vorwiegend nur die allerjüngsten Hülsenstadien von den geschlüpften Jungräupchen aufgesucht werden. In diesem kritischen Befallsstadium befinden sich offenbar die jungen Hülsen zum Teil noch im Schutze der abwelkenden Blütenblätter, so daß manche Autoren (so NICOLAISEN 4, PERRON 5) von dem Beginn des Larvenfraßes bereits im Blütengrund oder sogar in den Blütenknospen überzeugt sind. Auf jeden Fall besteht, wie noch näher aufzuzeigen sein wird, zwischen der Länge der Blühdauer der verschiedenen Erbsenformen und der Höhe des Wicklerbefalls unter der Voraussetzung einer weitgehend gleichen Gradation des Falters eine kaum zu übersehende Korrelation. Dieser Sachverhalt, der auch von NICOLAISEN (4) in den Grundzügen bestätigt wurde, gestattet schon hier den Hinweis, daß offenbar als das befallskritische Entwicklungsstadium der Erbse für die Wicklerraupe die Blüte und die allererste Hülsenentwicklung anzusehen ist. Phänologisch läßt sich aber dieses Entwicklungsstadium der Erbse allein durch die Blühphase erfassen, d. h. durch die Zeitdauer von Blühbeginn bis Blühende eines kritisch zu untersuchenden bzw. zu vergleichenden Erbsenbestandes.

Zum näheren Verständnis der Zusammenhänge zwischen Blühperiode und Befallshöhe der Erbsensorten haben erstmalig die Untersuchungen von W. NICOLAISEN (4) wesentlich beigetragen. Bei zweijähriger Durchprüfung (1926 und 1927) eines umfangreichen Sortiments von Speise- und Gemüseerbsen konnte NICOLAISEN den Nachweis führen, daß 1. solche Erbsensorten, deren Hauptblütezeit mit der Hauptflugzeit des Wicklers zusammenfällt, am stärksten geschädigt werden, daß 2. früh- und vor der Hauptflugzeit des Falters abblühende Sorten geringer als spätblühende befallen werden, und daß 3. mit der Länge der Blühdauer der Sorten auch ihre Befallshöhe zunimmt. Frühblühende Sorten und zugleich solche mit besonders komprimierter Blühperiode müssen damit faktisch der geringsten Angriffsmöglichkeit durch den Erbsenwickler unterliegen. Bei kritischer Durchprüfung des von NICOLAISEN wiedergegebenen Untersuchungsmaterials lassen sich tatsächlich in den Grundzügen diese für die Resistenzfrage der Erbsensorten wichtigen Schlußfolgerungen ziehen. NICOLAISEN hat daher mit Recht darauf hingewiesen, daß durch richtige Sortenwahl sowie durch die Züchtung von Erbsensorten mit entsprechendem Blührhythmus den durch den Wickler verursachten Schäden am wirksamsten begegnet werden kann.

Im Verlaufe eigener zwölfjähriger züchterischer Bemühungen ist es nun gelungen, bei Speise-, Futter- und Gemüseerbsen die Blühperiode genotypisch noch erheblich mehr zu komprimieren, als dies bei den bisher gängigen Erbsensorten des deutschen und zum Teil des Weltsortiments der Fall ist. Unter

Ausnutzung der bei Erbsen gelegentlich auftretenden erblichen Stengelverbänderung (Fasziation) und der hierbei morphogenetisch gegebenen Anhäufung fast aller Blüteninsertionen am apikalen Sproßende ließen sich züchterisch neue Erbsensorten vom *fasciata*-Typus der verschiedensten Nutzungsrichtungen entwickeln (SCHEIBE, 6). Bei weitgehend gleicher Blühphase (Auf- und Abblüte) der zu „Dolden" am Stengelende gehäuften Einzelblüten (Abb. 1) ist allen diesen *Pisum*-Formen vom echten *fasciata*-Typus eine besonders gleichmäßige und kurze Blühperiode eigentümlich. Damit durchlaufen aber auch fast alle Hülsen eines Blütenstandes innerhalb eines bestimmten kurzen Zeitabschnittes die gleichen Entwicklungsstadien.

Abb. 1. Der „doldenförmige" Blütenstand des *fasciata*-Typus bei *Pisum* zur Zeit der Vollblüte

Der Zweck der nachfolgenden Untersuchungen ist es nun gewesen, die Zusammenhänge, die zwischen dem Blühverlauf und der Befallshöhe der Erbsensorten durch Wicklerfraß bestehen, unter Verwendung bekannter Hochzuchtsorten einerseits sowie der neuen Zuchtstämme vom *fasciata*-Typus andererseits erneut kritisch zu überprüfen. Dabei müssen die Ergebnisse um so beweiskräftiger sein, je näher die zu vergleichenden Erbsenformen miteinander verwandt sind. Dieser Sachverhalt muß insbesondere dort zutreffen, wo ein Befallsvergleich zwischen Zuchtstämmen möglich ist, die aus ein und derselben Rassenkreuzung hervorgegangen sind und die sich bei sonst weitgehend gleicher genetischer Konstitution offenbar nur in einigen wenigen Erbfaktoren für Blühzeitpunkt und Blühverlauf unterscheiden, so daß von vornherein andere (hypothetische) „Resistenzfaktoren" außer Frage stehen.

Für das Verständnis der nachstehend wiedergegebenen Untersuchungsbefunde sei vorausbemerkt, daß unter der Dauer der Blühperiode die Anzahl der Tage vom Blühbeginn bis Blühende eines Bestandes verstanden wird. Als Maßstab für die Höhe des Wicklerbefalls diente der gewichtsmäßig ermittelte Prozentsatz befressener Samen je Sorte bzw. Zuchtstamm, in der Regel Mittelwerte von sechs handverlesenen Wiederholungsproben von je 1 kg erdroschenem Saatgut.

I. Blühdauer und Befallshöhe

In Tabelle 1 (Seite 437) sind dreijährige Untersuchungsergebnisse über die Befallshöhe durch Wicklerfraß bei Erbsensorten bzw. -zuchtstämmen wiedergegeben, die sich hinsichtlich ihrer Blüh d a u e r wesentlich unterscheiden. Der besseren Übersicht wegen wurden die geprüften *Pisum*-Formen zu Gruppen zusammengefaßt: Die laufende Nr. 1 bis 7 enthält Erbsensorten bzw. eigene Zuchtstämme vom unverbänderten Wuchstyp, im folgenden kurz als „Normaltypus" bezeichnet, die lfd. Nr. 8 bis 14 neue verbänderte Zuchtstämme vom „*fasciata*-Typus". Aus Abb. 2 sind die charakteristischen Unterschiede der Wuchsformen und des Blühverlaufes beider Typen zu entnehmen. Beim Normaltypus entspringen die Blüten bekanntlich nacheinander einzeln, gelegentlich auch zu zwei bis drei aus den aufeinanderfolgenden Blattachseln, und zwar beginnend je nach Sorte in verschieden tiefen Insertionsstellen; demzufolge dauert auch die gesamte Blühphase eines Individuums bzw. eines ganzen Bestandes lange Zeit, oft mehrere Wochen. Anders dagegen beim *fasciata*-Typus. Hier sind sämtliche Blüten in den Blattachseln nur von wenigen (meist zwei bis drei) stark verkürzten Internodien am apikalen Sproßende inseriert; die Blühphase erstreckt sich damit nicht nur bei der Einzelpflanze, sondern auch bei einem durchgezüchteten Bestand auf wenige Tage. Im gleichen unterschiedlichen Zeitverhältnis vollzieht sich bei beiden Wuchstypen auch der Entwicklungsverlauf der Hülsen, also das für den Wicklerbefall der Erbsenformen offenbar kritische Stadium.

Abb. 2. Der *fasciata*-Typus (links) und der Normaltypus (rechts) von *Pisum sativum*

Wie Tabelle 1 zeigt, ist in allen drei Untersuchungsjahren die Blühperiode bei den Erbsenformen vom Normaltypus (lfd. Nr. 1 bis 6) wesentlich länger als diejenige bei den Formen vom *fasciata*-Typus (lfd. Nr. 8 bis 14), im Mittel bei erstgenannten Formen in allen drei Jahren mehr als doppelt so lang. Entsprechend bewegt sich auch die Höhe des Wicklerbefalls, sofern

Tabelle 1

Der Befall durch Erbsenwickler (*Grapholitha nigricana* Steph.) in Abhängigkeit von der Blühdauer bei verschiedenen Erbsensorten vom Normaltypus und neuen Zuchtstämmen vom *fasciata*-Typus (1951 bis 1953)

Lfd. Nr.	Sorte bzw. Zuchtstamm	Blühperiode*) Neuhof bei Gießen						Befall durch Erbsenwickler in %				
		1951		1952		1953		Neuhof bei Gießen			Oberg b. Peine	
		Zeit	Tage	Zeit	Tage	Zeit	Tage	1951	1952	1953	1952	1953
1	Lohmanns Weender gr. Folger	12.6.–10.7.	29	12.6.–4.7.	22	29.5.–28.6.	31	4,62	14,10	6,75	34,7	4,34
2	Futtererbse Stamm 1015/46	15.6.–15.7.	31	16.6.–5.7.	20	2.6.–28.6.	27	4,35	15,68	5,57	—	—
3	Peragis Felderbse	15.6.–19.7.	35	13.6.–5.7.	23	29.5.–30.6.	33	3,91	18,12	8,85	37,5	4,53
4	Futtererbse Stamm 429/44	15.6.–14.7.	30	14.6.–7.7.	24	·	—	3,77	17,32	—	—	—
5	Mahndorfer frühe Viktoria	10.6.–12.7.	33	4.6.–6.7.	31	1.6.–29.6.	29	3,58	13,40	7,44	25,1	5,12
6	Strengs Weihenst. Felderbse	19.6.–15.7.	27	18.6.–10.7.	23	8.6.–2.7.	25	3,25	14,20	5,45	27,3	—
	M		30,8		23,8		29,0	3,91	15,47	6,81	31,1	4,66
7	Zeiners Kurz und Gut	—	—	9.6.–22.6.	14	28.5.–9.6.	13	—	8,11	2,78	12,5	1,61
8	Verbänderte Futtererbse Stamm 814/45	20.6.–2.7.	13	20.6.–30.6.	11	10.6.–23.6.	14	1,70	9,83	2,58	—	—
9	Verbänderte Futtererbse Stamm 2158/49	—	—	25.6.–3.7.	9	12.6.–22.6.	11	—	8,51	2,94	—	—
10	Verbänderte Viktoria-Erbse Stamm 902/45	20.6.–3.7.	14	21.6.–4.7.	14	11.6.–24.6.	14	1,28	9,90	2,62	—	—
11	Verbänderte Viktoria-Erbse Stamm 2200/49	—	—	—	—	8.6.–18.6.	11	—	—	2,55	—	—
12	Verbänderte Folgererbse Stamm 2380/49	—	—	—	—	28.5.–11.6.	15	—	—	1,98	—	—
13	Verbänderte Futter-Speise-Erbse Stamm 977/46	19.6.–1.7.	13	18.6.–29.6.	12	9.6.–21.6.	13	1,32	8,28	1,70	—	1,58
14	Verbänderte Futter-Speise-Erbse Stamm 946/46	18.6.–2.7.	15	16.6.–28.6.	13	8.6.–22.6.	15	1,18	7,72	1,43	13,8	1,29
	M		13,7		11,8		13,3	1,37	8,85	2,26	13,8	1,43

*) = Blühbeginn bis Blühende.

man die Befallswerte für beide Gruppen von Wuchstypen in jedem Prüfungsjahr miteinander vergleicht. Hiernach weisen — gemessen an den Mittelwerten — die Sorten bzw. Zuchtstämme vom Normaltypus den zwei-, zum Teil sogar den dreifachen Wicklerbefall gegenüber den neuen Zuchtformen vom *fasciata*-Typus auf. Naturgemäß ist die Höhe des Wicklerbefalls jahrgangsweise und auch an den beiden Prüfungsorten (Versuchsgut Neuhof bei Gießen in Hessen und Rittergut Oberg bei Peine in Hannover) sehr unterschiedlich. Entscheidend hierfür ist die jährlich sowie örtlich verschiedene Gradation des Falters. So sind die hohen Befallszahlen von 1952 am Prüfungsort Neuhof offenbar darauf zurückzuführen, daß dem Versuchsfeld unmittelbar nach Westen anschließend ein Schlag benachbart war, der im Vorjahre Erbsen getragen hatte, wo sich also das starke Auftreten des Erbsenwicklers noch vom vorausgegangenen Jahr her geltend machte. Gleiches dürfte für den besonders hohen Wicklerbefall 1952 am Versuchsort Oberg zutreffen. Auf die Bedeutung der Fruchtfolge, Feldlage und vorherrschenden Windrichtung eines Prüfungsortes für die Befallshöhe des Erbsenwicklers hat schon NICOLAISEN (4) nachdrücklich hingewiesen.

Unter den geprüften Hochzuchtsorten vom Normaltypus nimmt „Zeiners Kurz und Gut" (lfd. Nr. 7) eine Ausnahmestellung ein. Indessen wird gerade durch diese Ausnahme die Regel bestätigt. Obgleich die Sorte „Zeiners Kurz und Gut" zum unverbänderten Wuchstyp gehört, ist sie — bei einem zugleich recht gedrungenen Habitus — durch eine besonders kurze Blühphase ausgezeichnet. Dementsprechend ist auch in beiden Untersuchungsjahren sowie an beiden Prüfungsorten der durch den Erbsenwickler verursachte Fraßschaden beachtenswert gering; er bewegt sich etwa in der gleichen Höhe wie bei den Zuchtstämmen vom *fasciata*-Typus.

In Übereinstimmung mit den Befunden von NICOLAISEN ist also zunächst generell festzuhalten, daß zwischen der Länge der Blühperiode und der Höhe des Wicklerbefalls eine deutliche Korrelation besteht. Erbsensorten bzw. Zuchtstämme mit kurzer Blühphase, und hierbei insbesondere die Formen vom *fasciata*-Typus, weisen den geringsten Wicklerschaden auf.

Erscheint dieser generelle Befund auch zunächst als gesichert, so ist indessen noch der Nachweis zu führen, daß die Höhe des Wicklerbefalls bei den zum Vergleich gebrachten Erbsenformen tatsächlich nur oder doch zum mindesten vorwiegend durch die Länge der Blühphase bestimmt und nicht auch durch andere Entwicklungsstadien der Wirtspflanze beeinflußt wird. In Abb. 3 (Seite 439) wurde daher für einige der von uns mehrjährig geprüften Erbsensorten für drei Prüfungsjahre (1951 bis 1953) in Form von Säulendiagrammen die Länge der drei wichtigsten und einwandfrei faßbaren Phänophasen zusammengestellt. Es sind dies 1. die vegetative Phase (Saataufgang bis Blühbeginn), 2. die Blühphase und 3. der Entwicklungsabschnitt vom Blühende bis zur Reife. Die drei Säulenbündel links im Bild kennzeichnen die Verhältnisse bei Zuchtstämmen vom *fasciata*-Typus, die vier Säulenbündel rechts diejenigen bei Hochzuchtsorten vom Normal-

typus, dazwischen (nur zweijährig geprüft) sind die Phänophasen von „Zeiners Kurz und Gut" dargestellt. Am Kopfende jeder Säule sind außerdem nochmals die Wicklerbefallswerte in Prozenten angegeben.

Ein Blick auf Abb. 3 zeigt anschaulich folgenden Sachverhalt: Zwar ist die Gesamtvegetationszeit der relativ wicklerresistenten Erbsenformen vom *fasciata*-Typus sowie von „Zeiners Kurz und Gut" kürzer als diejenige bei den Sorten vom Normaltypus; da aber der Wicklerbefall nachweislich erst vom Zeitpunkt der Blüte einsetzt, ist die Länge der gesamten Wachstumsperiode sicherlich ohne Bedeutung. Gleiches gilt aus demselben Grunde zweifellos auch für die vegetative Phase, d. h. für den Wachstumsabschnitt bis zum Blühbeginn, obwohl diese Phänophase in einer

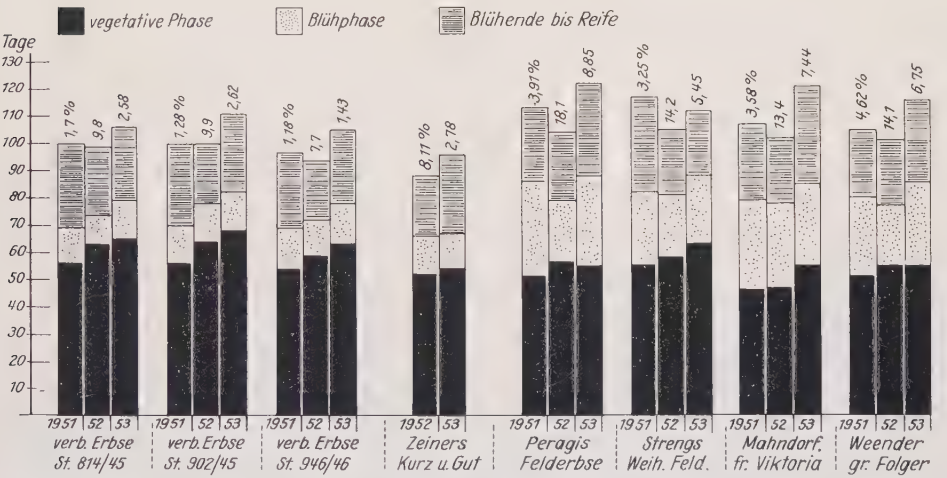


Abb. 3. Entwicklungsphasen verschiedener Erbsenstämme vom *fasciata*-Typus und Zuchtsorten vom Normaltypus sowie Befallswerte durch den Erbsenwickler (*Grapholitha nigricana* Steph.). Versuche 1951 bis 1953 in Neuhof bei Gießen

für die *fasciata*-Typen recht charakteristischen Weise in allen drei Jahren länger ausgedehnt ist als bei den Sorten vom Normaltypus. Hierin kann man bei der gleichzeitig kürzeren Zeitspanne der Gesamtvegetation einen Grund für die ausgesprochen komprimierte Blühphase der *fasciata*-Typen sehen. Diese wird gerade bei der säulendiagrammatischen Darstellungsform besonders augenfällig und trifft auch für die relativ wicklerresistente Sorte „Zeiners Kurz und Gut" zu. Da auch der dritte Entwicklungsabschnitt, die Phase vom Blühende bis zur Reife, bei den miteinander verglichenen Erbsenformen keine signifikanten Unterschiede aufweist, so bleibt allein die Schlußfolgerung übrig, daß die einwandfrei nachweisbaren Sorten- bzw. Typenunterschiede im Wicklerbefall in der Länge der Blühphase begründet sind.

Bei den hier näher untersuchten *fasciata*-Typen der Erbse sowie bei der Sorte „Zeiners Kurz und Gut" liegt also ganz offenkundig eine gewisse, durch die Kürze der Blühphase bedingte natürliche Resistenzeigenschaft gegen den Erbsenwickler vor. Somit können wir bei diesen Erbsenformen von einer phänophasisch bedingten Typenresistenz sprechen.

II. Blühzeitpunkt und Befallshöhe

Die Höhe der durch den Erbsenwickler verursachten Fraßschäden wird nun nicht allein durch die Länge der Blühphase der Erbsensorten hervorgerufen, sondern, wie schon von NICOLAISEN (4) zutreffend erkannt worden ist, auch durch den Zeitpunkt des Blühverlaufs. Von vornherein ist zu erwarten, daß ein weitgehender Zusammenhang zwischen der jahreszeitlich unterschiedlichen Höhe des Falterfluges und der Höhe des Wicklerbefalls bestehen muß. Erbsenformen, die ihre Hauptblühphase zur Zeit des Hauptfalterfluges haben, müssen — auch unabhängig von der Länge der Blühphase — stärker befallen werden als Sorten, deren Blühphase deutlich vor oder nach der Hauptflugzeit des Falters liegt.

Naturgemäß ist der Zeitpunkt des optimalen Falterfluges in den verschiedenen Landschaften verschieden, außerdem in den einzelnen Jahren gewissen Schwankungen unterworfen. Entscheidend hierfür sind die allgemeinen Klima-, vor allem aber die jährlich unterschiedlichen, bisweilen ganz lokalen Witterungsverhältnisse. Trotzdem ergeben sich für bestimmte Gegenden offenbar ganz charakteristische Schlüpf- und damit auch Flugzeitpunkte für den Falter. Nach den bisher vorliegenden Beobachtungen (LANGENBUCH, NICOLAISEN) liegt die Hauptflugzeit des Erbsenwicklers in Mitteldeutschland (Sachsen-Anhalt) etwa Mitte Juni. LANGENBUCH (3) fand — wohl bedingt durch besonders günstige Witterungsverhältnisse im Untersuchungsjahr — nochmals einen Gradationsanstieg in den ersten Julitagen. Nach unseren eigenen mehrjährigen Beobachtungen liegt die Hauptflugzeit des Falters in der Umgebung von Gießen (obere Wetterau) gleichfalls Mitte Juni (wir rechnen damit alljährlich etwa um den 14. Juni). Gelegentliche, dann allerdings deutlich abklingende Flughöhepunkte können noch bis Ende Juni erfolgen. Besonders warme, namentlich schwüle Junitage, die auf kurzfristig kühle Tage folgen, sind offenbar für den Schlupfzeitpunkt des Falters und damit für seine erhöhte Flugtätigkeit besonders günstig (Näheres siehe unten).

Die schwankende Gradation des Wicklerfalters in einzelnen Jahren und an verschiedenen Orten führt nun keineswegs zwangsläufig zu wesent[illegible] unterschiedlichen Befallsergebnissen bei bestimmten Erbsensorten bzw. Zuchtstämmen; denn entsprechend den jahreszeitlich bzw. örtlich verschiedenen Witterungsbedingungen schwanken gleichzeitig auch die genotypisch bedingten Blühzeitpunkte der Wirtssorten. So blühen früh blühende Erbsenformen bei günstigen Vegetationsverhältnissen im Frühsommer naturgemäß ebenfalls früher. Dies geht deutlich aus Tabelle 1 (Seite 437) hervor. Danach lag

am gleichen Anbauort (Neuhof bei Gießen) im Jahre 1953 unter günstigeren Wachstumsbedingungen im Vorsommer die Blühphase früher als in den beiden Jahren 1951 und 1952, und zwar einheitlich bei allen Erbsenformen. Trotzdem sind die genotypisch bedingten Unterschiede der Erbsenformen hinsichtlich Länge der Blühphase und damit auch die Differenzen im Wicklerbefall die gleichen geblieben. Hierin kommt zum Ausdruck, daß die witterungsbedingten, jahreszeitlich verschiedenen Verhältnisse des Prüfungsortes in der gleichen Weise den Zeitpunkt für die Blühperiode und für die Flugzeit des Falters nachdrücklich beeinflussen. Folglich bleibt das Verhältnis zwischen dem genotypisch bedingten Blühzeitpunkt der Erbsenformen und dem Zeitpunkt des Hauptfalterfluges von den jahreszeitlich verschiedenen Witterungsbedingungen eines Anbauortes praktisch unberührt. Damit läuft aber das ganze Problem darauf hinaus, Erbsenformen mit einem genotypisch fixierten Blühzeitpunkt anzubauen bzw. zu schaffen, welcher noch vor (bzw. auch nach) der Hauptflugzeit des Wicklerfalters liegt, dazu solche Erbsenformen züchterisch zu entwickeln, die eine genotypisch fixierte möglichst kurzfristige Blühphase aufweisen.

Der Beweis für die Richtigkeit dieser Überlegungen läßt sich eindeutig durch Prüfungsbefunde bei Erbsengenotypen führen, die aus einer einzigen Rassenkreuzung hervorgegangen sind und die sich bei weitgehend gleicher kurzer Blühphase nur durch unterschiedliche Blühzeitpunkte auszeichnen.

Tabelle 2

Der Erbsenwicklerbefall 1953 bei *fasciata*-Zuchtstämmen der gleichen Gemüseerbsen-Kreuzung

(Markerbse Palma grünsamig × *fasciata*-Stamm 902/45)

Feld-Nr.	Zuchtstamm	Blühfarbe	Blühzeit	Blühdauer Tage	Wicklerbefall %	Bemerkungen zum Wuchstyp *fasciata*-Typ	Reifezeit
797	3325/50	weiß	10.6.–23.6.	14	1,23	Gemüse-Zwergtyp	mittelspät
798	3328/50	„	**14.6.**–26.6.	13	**4,26**	„ „	„
799	3340/50	„	**14.6.**–27.6.	14	**6,02**	„ „	„
800	3343/50	„	8.6.–20.6.	13	1,05	Gemüse-Halbzwergtyp	mittelfrüh
801	3344/50	„	10.6.–22,6.	13	1,99	„ „	„
802	3350/50	„	7.6.–16.6.	10	1,02	„ „	früh
803	3351/50	„	**13.6.**–26.6.	14	**3,57**	„ „	mittelspät
804	3471/50	„	1.6.–17.6.	17	1,32	„ „	früh
805	3401/50	„	10.6.–23.6.	14	2,16	„ „	mittelfrüh
806	3355/50	„	**14.6.**–26.6.	13	**7,57**	„ „	spät
807	3362/50	„	**17.6.**–26.6.	10	**5,59**	„ „	„
808	3364/50	„	**18.6.**–28.6.	11	**5,72**	„ „	„

In der Tabelle 2 sind die Untersuchungsergebnisse bei *fasciata*-Zuchtstämmen einer Gemüseerbsen-Kreuzung zusammengestellt, die sich alle im Habitus weitgehend gleichen, d. h. die zu einem niederwüchsigen, dem sogenannten Zwerg- bzw. Halbzwergtypus gehören. Die Blühdauer aller zwölf Zuchtstämme lag zwischen 10 und 14 Tagen und betrug nur in einem

Falle 17 Tage, sie war also vergleichsweise zu Sorten vom Normaltypus desselben Jahres (vgl. Tabelle 1) ausgesprochen kurz. Während nun alle *fasciata*-Stämme mit einem früh en Blühbeginn auffallend gering en Wicklerbefall aufwiesen, stieg dieser bei den Stämmen mit Blühbeginn ab 13. Juni auffallend stark an. Trotz kurzer Blühphase (von 10, 11, 13 und 14 Tagen) wurden Stämme mit einem Blühbeginn nach dem 13. bzw. 14. Juni erstaunlich hoch geschädigt. Wie uns zahlreiche Beobachtungen und kritische Befunde auch an anderen Erbsen-Zuchtgruppen gezeigt haben, setzte 1953 an unserem Untersuchungsort Neuhof bei Gießen der Falterflug in den Tagen um den 13. und 14. Juni schlagartig ein. Alle Erbsensorten und Zuchtstämme, die erst zu diesem Zeitpunkt mit der Blühphase begannen, wurden daher besonders vom Wicklerfraß betroffen. Dies war, wie Tabelle 2 zeigt, auch für die spätblühenden *fasciata*-Stämme der Fall, trotz der für diesen Typus charakteristischen, plötzlich einsetzenden Vollblüte mit zugleich stark komprimierter Blühdauer. Frühblühende Stämme vom gleichen *fasciata*-Typus wiesen dagegen besonders niedrige Befallsprozente auf. Stamm 3471/50 (Feld-Nr. 804) ist hierfür — trotz relativ langer Blühphase von 17 Tagen — ein sprechendes Beispiel. Ganz offenkundig lag in diesem Fall die Vollblüte in der Zeit des fehlenden oder aber nur geringen Falterfluges. Die wenigen Blühtage nach Beginn des Massenauftretens des Falters (vom 13. bis 17. Juni) fielen dagegen in das Abblühstadium dieses Zuchtstammes mit bereits fortgeschrittener Hülsenentwicklung und führten damit nur zu sehr geringem Wicklerbefall.

Der Grund für das Massenauftreten des Falters um den 13. bzw. 14. Juni 1953 dürfte nach den vorliegenden meteorologischen Aufzeichnungen klar und eindeutig sein. Wie diese besagen, setzte nach vorausgegangenem relativ kühlem, regnerischem Wetter zu Anfang Juni dann ab 12. Juni warme, zum Teil heiße, namentlich aber an den Abenden schwüle Witterung mit einzelnen Gewittern und gelegentlichen Sprühregen ein. Dieser Witterungscharakter hielt bis etwa Anfang Juli an. Hierdurch wurde offenbar das Schlüpfen des Falters besonders gefördert und der Zeitpunkt seiner Hauptflugzeit maßgeblich bestimmt. Auch NICOLAISEN (4) machte die Beobachtung, daß das Schlüpfen des Wicklerfalters im Juni dann besonders begünstigt wurde, wenn heiße Tage mit abendlich schwüler Witterung einer vorausgegangenen kühlen Witterungsperiode folgten. Der Flugzeitpunkt des Falters lag dann besonders in den Abendstunden während der Dämmerung, kurz vor bis kurz nach Sonnenuntergang.

Tabelle 3

Der Erbsenwicklerbefall 1953 bei *fasciata*-Zuchtstämmen der gleichen Futtererbsen-Kreuzung

[(Weihenst. 101 × MB) × Nordost fr. Grüne] × *fasciata*-Stamm 902/45

Feld-Nr.	Zuchtstamm	Blühfarbe	Blühzeit	Blühdauer Tage	Wicklerbefall %	Bemerkungen zum Wuchstyp
753	4490/51	violett	8.6.–19.6.	12	0,82	idealer *fasciata*-Typ
754	4493/51	„	10.6.–23.6.	14	1,43	„ „ „
755	4494/51	„	10.6.–23.6.	14	1,45	„ „ „
756	4497/51	weiß	**13.6.**–26.6.	14	**4,53**	„ „ „
758	4524/51	violett	10.6.–22.6.	13	1,60	„ „ „
759	4537/51	weiß	**15.6.**–25.6.	11	**4,27**	„ „ „
760	4541/51	violett	9.6.–19.6.	11	0,58	„ „ „

Die gleichen Befunde hinsichtlich Abhängigkeit der Wicklerbefallshöhe vom Zeitpunkt des Blühverlaufes zeigt Tabelle 3 bei Futtererbsenstämmen. Es handelt sich hier um Erbsenstämme von der üblichen Wuchshöhe der *Pisum arvense*-Futtertypen, also um solche von beträchtlicher Futterwüchsigkeit, dazu um Stämme vom „idealen" *fasciata*-Typus, der durch eine am apikalen Sproßende besonders dicht gehäufte Blütenanordnung gekennzeichnet ist (Näheres siehe Scheibe, 6). Alle Stämme — Nachkommenschaften der gleichen Kreuzung — weisen die für den idealen *fasciata*-Typus charakteristische komprimierte Blühdauer auf. Entsprechend niedrig sind auch die Wickler-Befallsprozente, sofern der Blühbeginn und damit auch die schlagartig einsetzende Vollblüte noch vor dem 13. Juni liegen. Fällt hingegen die erste Blüte (damit beim *fasciata*-Typus praktisch die Vollblüte!) in die Zeit des optimalen Falterfluges, so nimmt der Wicklerbefall auch bei Stämmen des *fasciata*-Typus eine Größenordnung an, die derjenigen bei Erbsensorten vom Normaltypus des gleichen Untersuchungsjahres und -ortes nahekommt (vgl. Tabelle 1).

Tabelle 4

Der Erbsenwicklerbefall 1953 bei *fasciata*-Zuchtstämmen der gleichen Speiseerbsen-Kreuzung

(Lohmanns Weender grüne Folger × *fasciata*-Stamm 902/45)

Feld-Nr.	Zuchtstamm	Blühfarbe	Blühzeit	Blühdauer Tage	Wicklerbefall %	Bemerkungen zum Wuchstyp	Reifezeit
683	3880/51	weiß	1.6.–22.6.	22	2,40	aufgelockerter *fasciata*-Typ	früh
684	3882/51	„	2.6.–22.6.	21	2,70	aufgelockerter *fasciata*-Typ	„
685	3885/51	„	6.6.–21.6.	16	2,41	idealer *fasciata*-Typ	mittelfrüh
686	3886/51	„	8.6.–23.6.	16	2,08	idealer *fasciata*-Typ	„
688	3918/51	„	7.6.–25.6.	19	1,92	aufgelockerter *fasciata*-Typ	„
689	3920/51	„	**17.6.**–28.6.	12	**6,74**	idealer *fasciata*-Typ	spät
690	3921/51	„	**17.6.**–28.6.	12	**7,99**	idealer *fasciata*-Typ	„
691	3940/51	„	**18.6.**–29.6.	12	**6,64**	idealer *fasciata*-Typ	„
692	3954/51	„	6.6.–22.6.	17	2,59	aufgelockerter *fasciata*-Typ	mittelfrüh
693	3961/51	„	8.6.–25.6.	18	2,31	aufgelockerter *fasciata*-Typ	„

Die in Tabelle 4 zusammengestellten Prüfungsergebnisse betreffen *fasciata*-Stämme von gelbsamigen Trockenspeiseerbsen des Viktoria-Typus mit verschiedener Reifezeit, zugleich auch mit unterschiedlichen Blühzeitpunkten und verschiedener Blühdauer. Die beim „aufgelockerten" im Vergleich zum „idealen" *fasciata*-Typus etwas längere Blühdauer wird dadurch hervorgerufen, daß die am apikalen Sproßende inserierten Blüten aus mehreren (etwa vier bis sechs) Blattachseln mit ±kurzen, zwischengeschalteten Internodien entspringen (Abb. 4 und 5). Dadurch wird der Blühablauf am Blütenstand der Einzelpflanze, aber naturgemäß auch der des ganzen Zuchtstammes etwas verlängert (über die pflanzenbauliche und züchterische Bedeutung dieses Wuchstypus siehe Näheres bei Scheibe, 6). Hinsichtlich der Wicklerbefallshöhe ergibt sich nun bei diesen *fasciata*-Stämmen vom Viktoria-Typus in den Grundzügen das gleiche Resultat wie bei den bereits obengenannten Befunden

an anderen Zuchtgruppen. Liegen Blühbeginn und damit praktisch auch die Vollblüte bei den *fasciata*-Stämmen vor der 1953 als kritisch erkannten Hauptfalterflugzeit (13. bis 14. Juni), so sind die Befallsprozente gering. Trotz der etwas längeren Blühdauer trifft dies für die Stämme des aufgelockerten *fasciata*-Typus in der gleichen Weise zu wie für diejenigen des idealen *fasciata*-Typus. Hohe Befallswerte zeigen dagegen die drei spätblühenden Zuchtstämme mit Blühbeginn erst am 17. Juni, bei welchen — trotz kurzer Blühdauer — die Vollblüte ganz zweifellos mit der Hauptflugzeit des Falters zusammenfiel.

Abb. 4. Einzelpflanze vom „idealen" *fasciata*-Typus

Ab. 5. Einzelpflanze vom „aufgelockerten" *fasciata*-Typus

Der gleiche geschilderte Sachverhalt ließ sich noch bei zahlreichen weiteren Zuchtgruppen aus anderen Kreuzungen nachweisen. Die vorgestellten Beispiele mögen indessen genügen. Sie alle zeigen, daß nur solche Erbsensorten bzw. -zuchtstämme deutlich vom Wicklerbefall verschont bleiben, die eine genotypisch kurze Blühdauer aufweisen, und welchen eine erbliche Blühphase eigen ist, die mit maßgeblichen Abschnitten vor der Hauptflugzeit des Wicklerfalters liegt. Diesen Voraussetzungen entsprechen nach allen bisherigen Erfahrungen die frühblühenden Formen des *fasciata*-Typus mit ausgesprochen kurzer Blühdauer und einer gleich zu Beginn der Blühphase schlagartig einsetzenden Vollblüte am

besten. Die „phänophasisch bedingte Typenresistenz" bei *Pisum* gegen den Erbsenwickler hat also nur für Sorten und Zuchtstämme Gültigkeit, deren Hauptblühphase v o r oder aber — was zwar anzunehmen, aber aus landeskulturellen Gründen praktisch bedeutungslos ist — n a c h der Hauptflugzeit des Falters liegt (s e h r spätblühende und -reifende Sorten). Für die züchterische Entwicklung von neuen Erbsensorten mit einer gewissen „natürlichen Resistenz" gegen den Erbsenwickler dürften somit f r ü h blühende Formen vom *fasciata*-Typus mit dem ihm eigenen, stark komprimierten Blühverlauf besonders aussichtsvoll sein.

III. Bestäubungsversuche als Bekämpfungsmaßnahme

Das Vorliegen von Erbsenformen mit besonders kurzer Blühphase legte naturgemäß den Gedanken nahe, durch Bestäubungsmaßnahmen mit Insektiziden den Wicklerbefall bei *fasciata*-Typen noch mehr einzuschränken. Mehrfache Behandlung der Bestände im Verlauf der kurzen Blühperiode ließ ein solches Vorhaben zunächst als besonders wirkungsvoll erscheinen.

In den Jahren 1952 und 1953 wurden in unseren Versuchsgärten einschlägige Feldversuche mit drei Hochzuchtsorten vom Normaltypus und drei *fasciata*-Zuchtstämmen durchgeführt. Die Versuche liefen mit je sechs Wiederholungen zu je 10 qm nach der Langparzellenmethode. Als Trennstreifen dienten je Sorte bzw. Zuchtstamm drei Haferreihen, um von hier aus die Bestäubung der Bestände, ohne Schaden anzurichten, vornehmen zu können. Der ganze Versuch war als großer rechteckiger Block angelegt, um dem Falterflug eine einheitliche geschlossene Befallsfläche zu bieten. Gestäubt wurde mit Hilfe von Rückenverstäubern mit „Gesarol 50", „Gamma-Nexit" und „E 605", und zwar 1952 fünfmal, 1953 sechsmal im Verlauf der Blühphase gleichzeitig bei allen Sorten und Zuchtstämmen (über Bestäubungszeitpunkte siehe Tabelle 5 und 6). Da in beiden Jahren auch der E r b s e n k ä f e r auftrat, wurde die Versuchsauswertung gleichzeitig auf den Befall durch *Bruchus pisorum* L. ausgedehnt. Nach dem Drusch der Parzellen wurde das

Tabelle 5

B e s t ä u b u n g s v e r s u c h e b e i S o m m e r e r b s e n (S o r t e n u n d *f a s c i a t a*-Z u c h t s t ä m m e n) z u r B e k ä m p f u n g v o n E r b s e n w i c k l e r u n d E r b s e n k ä f e r 1 9 5 2

(Bestäubung fünfmal in die Hauptblüte am 14. 6., 19. 6., 25. 6., 1. 7. und 7. 7. 1952)

Sorte bzw. Zuchtstamm	unbehandelt		Gesarol 50		Gamma-Nexit		E 605	
	Wickler %	Käfer %	Wickler %	Käfer %	Wickler %	Käfer %	Wickler %	Käfer %
Stamm 814/45 (verbändert)	9,75	1,40	8,21	2,01	8,92	1,53	5,13	0,93
Peragis Felderbse	15,78	2,05	15,58	2,18	16,69	1,88	15,18	2,09
Stamm 977/46 (verbändert)	9,60	1,54	8,32	0,66	9,43	0,96	5,17	1,56
Mahndorfer frühe Viktoria	13,58	1,65	11,76	1,87	12,19	1,89	11,39	0,58
Stamm 902/45 (verbändert)	9,77	0,85	7,54	1,82	8,04	0,98	7,22	0,73
Lohmanns Weender gr. Folg.	16,18	1,60	14,29	2,08	15,12	1,87	10,56	1,98

Erntegut handverlesen und die vom Erbsenwickler sowie Erbsenkäfer befressenen Samen getrennt gewichtsmäßig ermittelt. In beiden Untersuchungsjahren standen dieselben Sorten bzw. Zuchtstämme in der Vergleichsprüfung.

Tabelle 6

Bestäubungsversuche bei Sommererbsen (Sorten und *fasciata*-Zuchtstämmen) zur Bekämpfung von Erbsenwickler und Erbsenkäfer 1953

(Bestäubung sechsmal in die Hauptblüte am 29. 5., 8. 6., 16. 6., 20. 6., 25. 6. und 30. 6. 1953)

Sorte bzw. Zuchtstamm	unbehandelt		Gesarol 50		Gamma-Nexit		E 605	
	Wickler %	Käfer %	Wickler %	Käfer %	Wickler %	Käfer %	Wickler %	Käfer %
Stamm 814/45 (verbändert)	2,37	0,43	1,53	0,43	2,47	0,38	0,73	0,13
Peragis Felderbse	9,19	1,03	6,40	1,20	10,40	1,07	5,27	0,73
Stamm 977/46 (verbändert)	1,92	0,68	2,87	0,61	1,03	0,48	0,60	0,27
Mahndorfer frühe Viktoria	7,55	0,64	9,13	0,67	7,47	0,53	5,00	0,53
Stamm 902/45 (verbändert)	2,61	0,44	2,43	0,47	2,44	0,33	1,13	0,33
Lohmanns Weender gr. Folg.	7,58	0,80	5,10	0,53	7,27	0,87	3,93	0,67

Die Ergebnisse sind für 1952 in Tabelle 5, für 1953 in Tabelle 6 zusammengestellt. Sie zeigen mit erstaunlich guter Übereinstimmung, daß trotz mehrfacher Stäubemaßnahmen während des Blühverlaufes eine durchschlagende Wirkung bei allen drei verwendeten Stäubemitteln gegenüber den unbehandelten Kontrollparzellen nicht nachweisbar war. Lediglich „E 605" vermochte im Vergleich zu den beiden anderen Stäubemitteln und zu den unbehandelten Kontrollen in beiden Untersuchungsjahren die Höhe des Wicklerbefalls etwas herabzudrücken (die kleinen Differenzen beim Käferbefall liegen zumeist innerhalb der Fehlergrenzen). Im Hinblick auf den erheblichen Arbeitsaufwand und die nicht unbedeutsamen Schäden in großen Feldbeständen bei mehrfachen Bestäubungsvorgängen dürfte aber auch der Erfolg mit „E 605" praktisch belanglos sein.

Im Gegensatz zu der unbedeutenden bzw. überhaupt nicht nachweisbaren Wirkung der Stäubemittel treten indessen in den Tabellen 5 und 6 wiederum die phänophasisch bedingten Resistenzunterschiede zwischen den beiden Wuchstypen in ganz markanter Weise hervor. Während die Erbsensorten vom Normaltypus — ganz gleichgültig, ob behandelt oder unbehandelt — in beiden Prüfungsjahren hohe, zum Teil sehr hohe Wicklerbefallswerte aufweisen, liegen diese bei den Zuchtstämmen des *fasciata*-Typus wesentlich niedriger. Im übrigen ist für alle geprüften Formen 1952 das „Befallsniveau" entsprechend dem stärkeren Auftreten des Erbsenwicklers in diesem Jahre insgesamt höher als 1953 (vgl. auch Tabelle 1 S. 437).

Als Gesamtergebnis der Bestäubungsversuche 1952 und 1953 ergibt sich jedenfalls der bemerkenswerte Tatbestand, daß die bei bestimmten Erbsenformen natürlich gegebene, d. h. phänophasisch bedingte Typenresistenz gegen den Erbsenwickler im Wirkungsgrad offenbar nicht durch künstliche Bestäu-

bungsmaßnahmen ersetzt oder gar übertroffen werden kann. Der Wicklerbefall bei Erbsensorten vom Normaltypus läßt sich also auch durch mehrfache Behandlung mit chemischen Stäubemitteln während des Blühverlaufs nicht so nachdrücklich einschränken, wie dies — ohne Stäubemaßnahmen — allein durch Verwendung von Erbsenformen mit genotypisch komprimierter Blühphase möglich ist.

IV. Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Die Blühphase (Blühbeginn bis Blühende) kann als deutlich faßbares, daher als ein für Sortenvergleichszwecke geeignetes Kriterium für die Befallsperiode des Erbsenwicklers angesehen werden, wenn auch die jungen Wicklerraupen nicht die Blüten, sondern offenbar die allerjüngsten Hülsenstadien befallen.

2. Zwischen der Länge der Blühdauer der verschiedenen Erbsenformen und der Höhe des Erbsenwicklerbefalls besteht unter der Voraussetzung einer weitgehend gleichen Gradation des Falters eine deutliche Korrelation. Erbsensorten mit kurzer Blütendauer weisen den geringsten Wicklerbefall auf.

3. Infolge der genotypisch bedingten komprimierten Blühphase und einer gleich zu Beginn der Blühperiode schlagartig einsetzenden Vollblüte haben, gleiche Intensität des Falterfluges vorausgesetzt, die *fasciata*-Typen besonders geringen Wicklerbefall.

4. Die durch die Kürze der Blühphase bedingte natürliche Wicklerresistenz der Erbsenformen, die stets nur relative Ausmaße hat, wird als „phänophasisch bedingte Typenresistenz" bezeichnet.

5. Neben der Länge der Blühdauer ist der Zeitpunkt des Blühverlaufes von entscheidender Bedeutung. Erbsenformen, die ihre Hauptblühphase zur Zeit des Hauptfalterfluges haben, werden stärker befallen als solche, deren Blühphase deutlich vor oder nach der Hauptflugzeit des Falters liegt.

6. Früh blühende Erbsenformen des *fasciata*-Typus mit ausgesprochen kurzer Blühdauer und einer gleich zu Beginn der Blühphase schlagartig einsetzenden Vollblüte weisen den geringsten Wicklerbefall auf.

7. Versuche, durch mehrfaches Bestäuben mit Insektiziden während der Blühphase den Erbsenwicklerbefall nachhaltig einzuschränken, führten zu keinem Erfolg. Die durch die komprimierte Blühphase bei *fasciata*-Typen gegebene natürliche Resistenz erwies sich hinsichtlich des Wicklerbefalls weit wirksamer als alle künstlichen Bestäubungsmaßnahmen.

8. Die Klärung der vorgenannten Gesetzmäßigkeiten war nur möglich durch die züchterische Entwicklung von streng miteinander vergleichbaren Erbsenrassen der jeweils gleichen Nutzungsrichtung, d. h. unter der Voraussetzung einer Vergleichsmöglichkeit von Wirtspflanzen mit unterschiedlicher Blühdauer und einem zeitlich verschiedenen Blühverlauf bei sonst weitgehend ähnlicher genetischer Konstitution.

Literaturverzeichnis

1. Langenbuch, R., 1934: Über die Verbreitung von Erbsenwicklerarten in Deutschland. Nachrbl. f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst **14**, 21.
2. — —, 1941: Über das Auftreten der drei Erbsenwicklerarten *Grapholitha nigricana* Steph., *Gr. nebritana* Tr. und *Gr. dorsana* F. in Deutschland. Mitt. Biol. Reichsanst. **65**, 65.
3. — —, 1941: Zur Biologie des Erbsenwicklers *Grapholitha nigricana* Steph. Arb. physiol. u. angew. Entomol. **8**, 219—245.
4. Nicolaisen, W., 1928: Der Erbsenwickler, *Grapholitha* (*Cydia, Laspeyresia*) *sp.*, sein Schaden und seine Bekämpfung unter besonderer Berücksichtigung der Anfälligkeit verschiedener Erbsensorten. Kühn-Archiv (Halle), **19**, 196—256.
5. Perron, J. P., 1944: Feeding of pea moth larvae, *Laspeyresia nigricana* Steph., within the stems and flower buds of cultivated peas. **74**th Rept. ent. Soc. Ont. 1943, 27—28, Toronto (Ref.: Rev. Appld. Entom. Ser. A., **33**, 141, 1945).
6. Scheibe, A., 1954: Der *fasciata*-Typus bei *Pisum*, seine pflanzenbauliche und züchterische Bedeutung. Z. f. Pflanzenzüchtg. **33**, 31—58.
7. Wright, D. W. and Geering, Q. A., 1948: The biology and control of the pea moth, *Laspeyresia nigricana* Steph. Bull. entomol. Res. **39**, 57—84, London (Ref.: Rev. Appld. Entom. Ser. A, **36**, 261—264, 1948).

Besprechungen

Sorauer, P., Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Herausgegeben von Appel, O. †, Blunck, H. und Richter, H. Bd. II, 1. Lief. Die Viruskrankheiten. Bearbeitet von Köhler, E. und Klinkowski, M. 6. Aufl. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg. 784 S., 326 Abb., Ganzleinen geb. 150,— DM*).

Dieser Band des nach und nach in neuer Auflage erscheinenden Handbuches scheint dem Referenten besonders gut gelungen zu sein. Wir erwarteten ihn mit Ungeduld, denn die letzte Auflage (1934) des Abschnittes „Virosen" im „Sorauer" war durch die rapide Entwicklung dieses Arbeitsgebietes längst überholt, und das 1937 erschienene „Textbook" von Kenneth Smith ist seit Jahren vergriffen. Es fehlte also vollständig an einer neuzeitlichen, zusammenfassenden Darstellung der pflanzlichen Viruskrankheiten.

Die beiden Verfasser — selbst anerkannte Forscher auf dem Gebiete der pflanzlichen Virosen — haben sich so gut aufeinander abgestimmt, daß der vorliegende Band wie aus einem Guß erscheint. Köhler hat den allgemeinen Teil und im speziellen die Chenopodiaceen und Solanaceen bearbeitet, Klinkowski sämtliche übrigen Kulturpflanzen.

1934: 182 Seiten; 1954: 706 Seiten — wie könnte besser der Fortschritt unserer Kenntnisse in der botanischen Virologie gekennzeichnet werden! Den für manchen Käufer erschreckenden Preis müssen wir in Kauf nehmen, denn in der Tat ersetzt dieser Band für die meisten angewandt-wissenschaftlich arbeitenden Pflanzenschutz-Dienststellen zahlreiche ausländische Bücher und Zeitschriften.

Während im allgemeinen Teil 1934 nur die im Lichtmikroskop sichtbaren „Zelleinschlüsse" abgebildet werden konnten und über die Natur der Viren nur Vermutungen möglich waren, erhalten wir jetzt durch gute elektronenmikroskopische Abbildungen eine genaue Kenntnis von den Formen der wichtigsten Viren und erfahren mancherlei über ihr physikalisch-chemisches Verhalten sowie über die pathologische Physiologie der viruskranken Pflanze. Die Vektoren der behandelten Viren werden nach der umfassenden Arbeit von Heinze angeführt. Eine abgekürzte Tabelle, aus dieser übernommen, zeigt die verwirrende Mannigfaltigkeit auf, die hier herrscht. Auch im Inhaltsverzeichnis sind erfreulicherweise die Vektoren zu finden.

Die Klassifikation der Viren „liegt noch sehr im argen". Wenn dies unsere besten Fachleute sagen, muß sich der Fernerstehende damit trösten und auf die Zukunft hoffen. Die Frage, ob die Viren als lebend oder nicht-lebend zu betrachten seien, wird als umstritten bezeichnet und nicht weiter verfolgt. Sehr richtig, denn sie ist nicht ohne eine eingehende Diskussion über den Begriff „Leben" zu erörtern, und dies läge außerhalb des Rahmens eines Pflanzenschutz-Handbuches. Hypothesen über die Entstehung der Viren werden aus dem gleichen Grunde nicht vorgetragen. Die augenfällige Zunahme der Virosen wird in der Hauptsache auf den gesteigerten Weltverkehr, der die Viren und die Vektoren verschleppt, zurückgeführt. Daß hier noch ein schweres, völlig ungelöstes Problem vorliegt, wird aber dem Leser nicht verborgen bleiben.

Der spezielle Teil zieht in großem Umfange amerikanische Untersuchungsergebnisse heran. Dadurch bekommt der Leser ein geradezu beängstigendes Bild von der Virusver-

*) Die in Vorbereitung befindliche 2. Lieferung des II. Bandes behandelt die Bakterienkrankheiten. Bei Bestellung auf beide Lieferungen wird ein Nachlaß von 10 % auf die Einzelpreise gewährt. Verlag Paul Parey

seuchung unserer Kulturpflanzen — ein Bild, das für Europa zur Zeit noch zu düster erscheint, vielleicht aber in einigen Jahrzehnten zutreffend sein wird.

Am schlimmsten ist die Kirsche daran, von der 23 Virosen beschrieben werden. Pfirsich und Tomate erscheinen mit je 22, die Kartoffel mit 20, der Tabak mit 11, die Bohne mit 9 differenten Virosen. Die Intensität, mit der heute auf dem Virusgebiet gearbeitet wird, aber auch der Fleiß des Autors, ergibt sich aus der Tatsache, daß über die „swollen shoot-Krankheit" des Kakaobaumes — eine der aktuellsten und wirtschaftlich wichtigsten Virosen —, die erst 1936 entdeckt worden ist, schon 65 Arbeiten zitiert werden.

Durch den ganzen speziellen Teil zieht sich eine gewisse Diskrepanz, die freilich heute noch nicht beseitigt werden kann: Die Verfasser streben danach, die einzelnen Viren zu behandeln. Unterscheidbar sind aber, solange nicht sehr eingehende Untersuchungen vorliegen, nur die Krankheitssymptome. Deshalb bleibt nichts anderes übrig als die verschiedenen Virus-Krankheiten darzustellen. Deren Bezeichnung wird meist nach dem Vorschlag desjenigen Autors gewählt, der sie zuerst beschrieb; sie ist manchmal nichtssagend und wenig glücklich. Ein Handbuch hat die Aufgabe, Ordnung in die Nomenklatur der Krankheiten zu bringen und (wenigstens für einige Jahre) die gültigen Bezeichnungen der Krankheiten festzulegen. Es muß deshalb Zusammengehöriges vereinigt, Nichtzusammengehöriges getrennt werden. Dies erfordert Kritik, wissenschaftlichen Takt und Sachkenntnis — in vielen Fällen mehr Sachkenntnis, als wir heute besitzen. Ein Beispiel: Die von RADEMACHER sehr zweckmäßig „Schwarzstippigkeit" genannte Virose des Kohls, die uns neuerdings recht beunruhigt, wird auf Grund einer Vermutung von BUHL unter der „Kräuselmosaikkrankheit der Kohlrübe" behandelt. Sie müßte aber wohl beim „Blumenkohlmosaik" zu finden sein. Denn, obgleich Mosaikfleckung keineswegs ein charakteristisches Symptom dieser Krankheit ist, hat VAN HOOF kürzlich die Identität des Erregers von „Blumenkohlmosaik" und der in Holland „stip" genannten, mit der deutschen „Schwarzstippigkeit" übereinstimmenden Krankheitserscheinung nachgewiesen. Sieht man nun noch im vorliegenden Band die amerikanischen Bilder der „Schwarzringfleckigkeit des Kohls" (Abb. 106), so stellt man fest, daß gerade diese völlig mit denen der „Schwarzstippigkeit" übereinstimmen, und man muß zu der Auffassung kommen, daß bei der fraglichen Virose im deutschen Kohlanbaugebiet auch die „Schwarzringfleckigkeit" im Spiel sein dürfte.

Unsere Unterscheidung der Virosen ist heute oft nur ein Tasten. Aber es ist das große Verdienst der beiden Autoren, das reiche vorliegende Material in einer ansprechenden und kritischen Weise dargestellt zu haben. Ihre Darstellung wird dereinst überholt sein. Aber sie haben „den Besten ihrer Zeit genug gelebt", und der schöne, hier vorliegende Band des Handbuches wird im forschenden und praktisch arbeitenden Pflanzenschutz unentbehrlich sein.

Zum Schluß soll noch den Abbildungen ein besonderes Lob ausgesprochen sein; sind doch gute Krankheitsbilder bei der Darstellung von Virosen eine dringende Notwendigkeit. Wir freuen uns immer wieder an der vorbildlichen Drucktechnik, die der Verlag Parey seinen neueren Werken widmet. Für diesen Band wurde viel Bildmaterial von amerikanischen Autoren dankenswerterweise zur Verfügung gestellt. Der Wert des Buches ist durch die vielen und guten Bilder noch gesteigert worden.

KOTTE, Freiburg i. Br.

Săvulescu, Traian, Monografia Uredinalelor din Republica Populară Română. Bukarest 1953. 4 °, 2 Bde., 1166 S., 54 Taf., 948 Abb. (rumänisch).

Der Verf., der durch seine zahlreichen Veröffentlichungen über die Uredineen seiner Heimat rühmlichst bekannt ist, legt in zwei stattlichen Bänden eine Rostmonographie Rumäniens vor, die sich den zahlreichen Rostmonographien anderer Länder würdig anreiht.

Der erste Band ist grundlegenden Ausführungen über die Rostpilze im allgemeinen, wie über die in Rumänien vorkommenden Arten im besonderen, gewidmet. Der Stoff ist in diesem Teil gegliedert in: 1. Morphologie und Biologie. Es erfreut hier eine sehr übersichtliche und instruktive tabellarische Aufteilung der rumänischen Rostarten nach Wirtsfamilien, nach Heteröcie und Autöcie sowie nach Entwicklungsformen. Neben den üblichen Typen der Eu-, Opsis-, Brachy-, Endo-, Hemi- und Mikroformen finden sich noch Kataform (I = II + III), Hypoform (0 + III) und Katopsisform (I + III).

Es herrschen in Rumänien die autöcischen Euformen vor (118). Unter den heteröcischen überwiegen die Hemiformen (86), gefolgt von den Eu- (79) und Mikroformen (59). — Als weitere Abschnitte finden wir: 2. Spezialisierung, 3. Einfluß auf die Wirtspflanze in morphologisch-anatomischer wie physiologischer Hinsicht, 4. Vorkommen der einzelnen Spezies in verschiedenen Landesteilen und Höhenlagen, 5. Hyperparasiten, 6. Systematische Aufgliederung, 7. Als sehr umfangreiches Kapitel: Wirtschaftliche Bedeutung der Rostpilze für die verschiedenen Kulturpflanzen. Naturgemäß beanspruchen hier die Getreiderostarten den breitesten Raum und werden in Form kleiner Monographien, unter besonderer Berücksichtigung der rumänischen Verhältnisse, ausführlich besprochen. Umfangreiche Tabellen über Sortenresistenz sind beigefügt. Weiterhin werden hier sonstige Gräserroste, Spargelrost, Roste von Gewürzpflanzen, Rüben, Sonnenblume, Lein, Kok-Saghiz, Medizinalpflanzen, Zierpflanzen, Obstgewächsen und Forstpflanzen eingehend gewürdigt. — Die größeren Kapitel schließen jeweils mit Bibliographien ab, in denen insgesamt über 2000 Titel angeführt sind. Es ist bedauerlich, aber verständlich, daß hier die neuere westeuropäische und amerikanische Literatur manche Lücke aufweisen.

Der zweite Band umfaßt den speziellen Teil. Jede der auf 1279 Wirtsarten in Rumänien gefundenen 439 Rostspezies wird mit bibliographischen Daten, mit den Synonymen und den wichtigsten morphologischen und biologischen Angaben beschrieben. Jeder Spezies sind weiterhin, meist mehrere, sehr gute Original-Abbildungen morphologischer Einzelheiten beigefügt. Hinsichtlich der schwierigen Nomenklatur und der umstrittenen systematischen Umgrenzung wird der Verf. wegen der vielfach widersprechenden Anschauungen nicht durchweg vorbehaltlose Zustimmung finden. Das gilt, um nur willkürlich aus der Fülle des Stoffes einige Beispiele herauszugreifen, für mehrere Spezies der Gattungen *Phragmidium* und *Gymnosporangium*, für die auf Leguminosen vorkommenden *Uromyces*-Arten, für die Gräser oder Seggen bewohnenden Puccinien, für *Puccinia coronifera, P. tragopogi, P. suaveolens, P. leontodontis* usw. Das sind aber Streitfragen, die dank der aufgeführten Synonyme weniger ins Gewicht fallen und den großen Wert des Werkes nicht zu schmälern vermögen.

Das phytopathologische und mykologische Schrifttum ist durch diese Monographie wesentlich bereichert, und speziell die Uredinologen werden dem Verf. für seine fleißige Arbeit Dank wissen. Die Ausstattung der von der Rumänischen Akademie herausgegebenen Bände ist vorzüglich. Lediglich die Farbtafeln können nicht befriedigen und stehen nicht im Einklang mit dem erfreulichen Bilde des Gesamtwerkes. Hassebrauk, Braunschweig

Buchner, Paul, Endosymbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen. (Lehrbücher u. Monographien aus dem Gebiete der exakten Wissenschaften. Reihe der experimentellen Biologie Bd. 12.) 771 S., 336 Abb., 5 Tab., 3 Tafeln. Basel-Stuttgart 1953, Verlag Birkhäuser. 66,50 DM.

Für den Pflanzenpathologen scheint es sich bei den Symbiosen von Tieren mit Bakterien und Pilzen, die den Hauptteil des vorliegenden Buches ausmachen, während die Algensymbiosen zurücktreten, um eine Gruppe von Erscheinungen zu handeln, die kaum eine Beziehung zu seinem Arbeitsgebiet besitzt. Aber je mehr man sich in die Lektüre vertieft, desto deutlicher werden gewisse Zusammenhänge, so z. B. der Umstand, daß zahlreiche Pflanzenschädlinge unter den Insekten Symbionten besitzen. Auffällig ist ferner, daß Insekten, die pflanzenpathogene Viren übertragen, fast ohne Ausnahme Symbiontenträger sind, und daß neuerdings in einigen Fällen bei Zikaden eine vielleicht mit den Symbionten in Verbindung stehende Virusvermehrung im Überträger nachgewiesen worden ist (Black, Ann. New York Acad. Sci. 56, 1953). In anderen Fällen besteht ein Zusammenhang zwischen symbiontischen Einrichtungen und dem Auftreten von bakteriell verursachten Fäulen, wenn z. B. die jungen Larven von *Hylemyia* (*Phorbia*) *cilicrura* bestimmte, im Darm der Imagines lebende Bakterien in Kartoffelknollen verschleppen und sich in dem infizierten faulen Gewebe entwickeln. Auf ähnliche Verhältnisse trifft man bei den Fruchtparasiten unter den Trypetiden, deren symbiontische Bakterien Fäulen bei Oliven, Äpfeln, Pfirsichen, Feigen usw. auslösen.

Die mikrobiologische Erforschung ist leider noch immer im Rückstand; erst bei einer verhältnismäßig geringen Zahl von Symbiosen ist mit wechselndem Erfolg die Frage geprüft worden, ob sich die Symbionten kultivieren lassen. Bei der Gruppierung der Symbiosen versucht der Verfasser, soweit Bakterien und Pilze als Partner beteiligt sind, von Lebensweise und Ernährung des Wirtes auszugehen. Hierbei ergeben sich trotz der vorhandenen zahlreichen Ausnahmen zweifellos Beziehungen, so daß zum mindesten einer der Faktoren, die bei der Entstehung der Symbiosen mitgewirkt haben, erkannt ist. Folgende gegenüber den früheren Formulierungen nur unwesentlich veränderte Gruppen werden aufgestellt: Tiere mit zellulosereicher Kost, darunter Holz, Samen, krautige Pflanzenteile fressende Insekten (zahlreiche Coleopteren, Attinen, Termiten, Trypetiden, Anthomyiden); in Baumflüssen lebende Insekten (bisher nur Dasyhelea und Nosodendron); pflanzensaftsaugende Insekten (heteroptere Wanzen, Blattläuse, Schildläuse, Zikaden, Aleurodiden, Psylliden); Wirbeltier-Blutsauger und Keratinfresser (Hirudineen, Ixodiden und Argasiden, Glossininen, Hippobosciden, Cimiciden, Anopluren, Mallophagen usw.); Insekten mit gemischter Kost (Blattiden, Mastotermitiden, einige Formiciden); schließlich folgen noch zwei Gruppen, die sich nicht ohne weiteres in das Ernährungsschema einfügen lassen, die Leuchtsymbiosen bei Cephalopoden, Tunicaten, Teleostiern und die in Exkretionsorganen lokalisierten Symbiosen bei Anneliden, Cyclostomatiden und Annulariiden, Molguliden.

Im allgemeinen Teil diskutiert der Verfasser die historischen (phylogenetischen) Probleme und die mit den Beziehungen zwischen Symbiont und Wirtsorganismus zusammenhängenden Fragen. Besondere Beachtung verdient der Abschnitt über die Bedeutung der Symbiosen. Hier hat des Verfassers Auffassung von der Lebensnotwendigkeit der Symbionten für ihren Wirt insofern eine Bestätigung gefunden, als bei der Mehrzahl der Fälle, in denen eine Sprengung der Symbiose gelungen ist, Ausfallerscheinungen beim symbiontenfreien Wirt aufgetreten sind. Das abweichende Verhalten von Eurydema (Heteroptere) und Oryzaephilus (Silvaniden), die auch ohne Symbionten bei unveränderter Lebensweise normales Verhalten zeigen, läßt allerdings erkennen, daß Analogieschlüsse nicht gestattet sind. In den meisten Fällen liegt die Bedeutung der Symbionten darin, daß sie ihren Wirt mit Wuchsstoffen und Vitaminen, vor allem aus der B-Gruppe, versorgen (Pediculus, Rhodnius, Pseudococcus, Sitodrepa usw.). Diskutiert werden ferner N-Bindung durch Symbionten (Aphiden, Cerambyciden, *Pseudococcus citri*), Versorgung mit Enzymen (Holzverdauung usw.), Abbau von Exkreten (Lecaniinen, Lumbriciden, Blattiden usw.).

Es wäre sehr erfreulich, wenn das nunmehr in der dritten Auflage erschienene ausgezeichnet ausgestattete Werk auch Pflanzenpathologen und Mikrobiologen zu einer Beschäftigung mit diesem interessanten und vielversprechenden Gebiet anregen würde.

Adelheid Müller, Mahlum

BAND 21, HEFT 1 SEPTEMBER 1953

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand, Prof. Dr. H. Braun-Bonn, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Celle, Prof. Dr. K. O. Müller-Cambridge, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner
Braunschweig

und

Prof. Dr. E. Gäumann
Zürich

Mit 45 Abbildungen

1953

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 21, **Heft 1,** *S. 1—104, Berlin 1953*

...ITH MYCOLOG...

INHALT

Abhandlungen

Rack, K., Untersuchungen über die Bedeutung der Verwundung und über die Rolle von Wuchsstoffen beim bakteriellen Pflanzenkrebs. (Mit 19 Abb.) 1

Linskens, H. F., Die unterschiedliche Empfindlichkeit von Samen gegenüber Heißwasserbädern (Untersuchungen an Weizen). (Mit 5 Abb.) 45

Gassner, G. G., Untersuchungen über Keimungsbedingungen und Bekämpfungsmöglichkeiten beim Zwergsteinbrand (*Tilletia brevifaciens*) im Laboratorium 53

Schneider, R., Untersuchungen über Feuchtigkeitsansprüche parasitischer Pilze. (Mit 10 Abb.) 63

Zobrist, L. und Hoffmann, E., Die Bekämpfung des Zwetschgenrostes mit Zineb. (Mit 1 Abb.) 79

Schmidle, A., Die Cytospora-Krankheit der Pappel und die Bedingungen für ihr Auftreten. (Mit 5 Abb.) 83

Scrivani, P., Ricerche su di una specie di Fusarium (*Fusarium solani* [Mart] App. et Wr.), producente una Tracheomicosi del Peperone (*Capsicum annuum*). (5 Fig.) 97

Besprechungen 104

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Schriftleitung: Prof. Dr. Dr. h. c. Gassner, Braunschweig, Humboldtstr. 1 und Prof. Dr. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2.
Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47 oder an die Herausgeber: für Arbeiten aus Deutschland und Österreich an Prof. Gassner, für Arbeiten aus anderen Ländern an Prof. Gäumann.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Gassner, Braunschweig. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Gassner vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei.
Honorar für die „Besprechungen" 48,— DM je Druckbogen.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 8 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Bogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich.
Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 19,60 DM **Einzelpreis 21,60 DM**

Soeben erschienen:

Krankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen und ihre Bekämpfung

Für Praxis und Studium

Von

Prof. Dr. H. BRAUN
Direktor des Instituts für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn

und

Dr. E. RIEHM
Präsident i. R. der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft

7. Auflage, 348 Seiten mit 290 Textabbildungen, brosch. DM 24,80, Ganzln. DM 26,80

Der BRAUN-RIEHM ist, wachsend mit der Bedeutung des Pflanzenschutzes, der Zunahme an Erkenntnissen und Fortschritten in den Bekämpfungsmethoden, zu einem international geachteten Standardwerk geworden. Praxis und Studium erhalten einen wirklich auf der Höhe der Zeit stehenden Überblick über die Erkenntnisse und Erfahrungen auf dem Gebiete der Phytomedizin. Während in dem ersten, allgemeinen Teil alles Wesentliche über Begriff, Erscheinungen, Ursachen, Entstehung und Verlauf der Krankheiten, über die pflanzlichen und tierischen Schädlinge sowie über Maßnahmen und Organisation des Pflanzenschutzes gesagt ist, bringt der spezielle Teil eine ins einzelne gehende Darstellung der Krankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen vom Getreide bis zum Weinstock. Ein besonderer Vorzug des Buches liegt in der reichen Illustrierung mit großenteils völlig neuen, instruktiven Naturaufnahmen. Gegenüber der innerhalb drei Jahren vergriffenen 6. Auflage wurde eine Anzahl von Schädlingen und Krankheiten, wie Rübenderbrüßler, Blattrandkäfer als Luzerneschädling, Tabakwürger, Apfelschalenwickler und die Bormangelkrankheit der Reben neu aufgenommen. Eine große Zahl von Literaturhinweisen ermöglicht es, die Quellen zu noch eingehenderem Studium zu finden, ein abschließendes ausführliches Sachregister sichert eine gute Orientierungsmöglichkeit.

Grundriß der Forstpathologie

Von Prof. Dr. F. SCHWERDTFEGER

1950. 210 Seiten mit 139 Textabbildungen, Ganzleinen geb. DM 13,60

Aus dem Inhalt:

Erster Hauptteil: Die einzelnen Waldkrankheiten

Durch Wettererscheinungen bedingte Krankheiten — Durch Bodeneigenschaften bedingte Krankheiten — Durch menschliche Einwirkungen bedingte Krankheiten — Durch Glieder des Biozöns bedingte Krankheiten.

Zweiter Hauptteil: Entstehung, Verlauf und Auswirkungen der Waldkrankheiten

Krankheitsvoraussetzungen auf seiten der Krankheitsursache — Krankheitsvoraussetzungen auf seiten des Waldes — Krankheitsverlauf und Krankheitserscheinungen — Wirtschaftliche Auswirkungen der Waldkrankheiten

Dritter Hauptteil: Verhütung und Bekämpfung der Waldkrankheiten

Waldhygiene — Diagnose der Waldkrankheiten — Prognose der Waldkrankheiten — Waldtherapie.

Dieser Grundriß gibt einen erschöpfenden Überblick über die Grundtatsachen der Waldkrankheitslehre und macht mit den wirtschaftlich wichtigen Krankheiten und Schädigungen des Waldes sowie ihrer Verhütung und Bekämpfung bekannt.

Dem Forstmann wie dem Phytopathologen, dem Botaniker wie dem Zoologen, dem Chemiker wie dem Bodenkundler werden über die geradezu stürmisch verlaufende Entwicklung dieses Arbeitsgebietes auf Grund neuester wissenschaftlicher Erkenntnisse erstmalig die allgemeinen Zusammenhänge und die sich ergebenden Nutzanwendungen vor Augen geführt.

VERLAG PAUL PAREY

Im August erschien:

Handbuch der Pflanzenkrankheiten

Begründet von PAUL SORAUER

V. Band: **Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen, 2. Teil**
5. neubearbeitete Auflage
Erste Lieferung: **Diptera, Hymenoptera**

Unter Mitwirkung von
Dr. H. FRANCKE-GROSMANN, Prof. Dr. K. GÖSSWALD, Prof. Dr. W. HENNIG
Dr. H. MAERCKS, Dr. E. OTTEN

Herausgegeben von Prof. Dr. H. BLUNCK
ehem. Direktor des Instituts für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn

320 Seiten mit 89 Abb., Einzelpreis Ganzleinen gebunden DM 80,—

Bezieher, die sich bei Bestellung der 1. Lieferung auch zur Abnahme der Lieferungen 2—5 verpflichten, erhalten auf die Einzelpreise einen Nachlaß von 10 %.

Die Neuauflage des Bandes V „Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen", 2. Teil, verzeichnet gegenüber der 4. Auflage bei manchen Abschnitten eine Zunahme des zu bewältigenden Stoffes auf doppelten Umfang. Hierdurch war eine Teilung in fünf, in sich abgeschlossene, mit Inhaltsverzeichnis und Sachregister versehene Lieferungen erforderlich. Die Bearbeitung erfolgte nach den gleichen Richtlinien wie in dem vorangegangenen Band IV. In kurzer Fassung und prägnanter Ausdrucksweise wird das Wissen über Biologie, Form der Schäden, wirtschaftliche Bedeutung und Bekämpfungsmöglichkeiten der Schädlinge dargestellt.

Die außerordentlich starke Vermehrung des in Sorauers „Handbuch der Pflanzenkrankheiten" behandelten Stoffes machte eine teilweise Neugliederung des Gesamtwerkes erforderlich:

I. Band: **Die nichtparasitären Krankheiten**
1. Halbband, 6. Aufl. 1933, 592 S. m. 123 Textabb. Ganzln. DM 46,—
2. Halbband, 6. Aufl. 1934, 553 S. m. 147 Textabb. Ganzln. DM 44,—

II. Band: **Die Virus- und Bakterienkrankheiten**
6. neubearbeitete Auflage in 2 Lieferungen
1. Lieferung: Die Viruskrankheiten, erscheint Herbst 1953
2. Lieferung: Die Bakterienkrankheiten, erscheint 1954

III. Band: **Die pflanzlichen Parasiten,** 2. Teil (Pilzkrankheiten)
5. neubearb. Aufl. 1932. 948 S. mit 195 Textabb. Ganzln. DM 66,—

IV. Band: **Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen,** 1. Teil
5. neubearb. Aufl. in 2 Lieferungen
1. Lieferung 1949. 458 S. m. 210 Textabb. Ganzln. DM 44,—
2. Lieferung 1953. 526 S. m. 154 Textabb. Ganzln. DM 116,—
brosch. DM 112,—

V. Band: **Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen,** 2. Teil
5. neubearb. Aufl. in 5 Lieferungen
1. Lieferung: Diptera und Hymenoptera
1953. 320 S. m. 89 Textabb. Ganzln. DM 80,— (Einzelpreis)
2. Lieferung: Coleoptera, erscheint Ende 1953
3. Lieferung: Heteroptera und Homoptera, erscheint 1954
4. Lieferung: Aphidoidea, Coccoidea und San-José-Schildlaus, erscheint 1954
5. Lieferung: Vertebrata, erscheint voraussichtlich 1954

VI. Band: **Pflanzenschutz**
Verhütung und Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten
1. Halbband, 2. neubearb. Aufl., in 2 Lieferungen
1. Lieferung 1952. 464 S. m. 3 Textabb. Ganzln. DM 78,—
2. Lieferung in Vorbereitung
2. Halbband 1941. 740 S. m. 82 Textabb. Ganzln. DM 52,—

VERLAG PAUL PAREY

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47 (West-Berlin). Herausgeber Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner, (20b) Braunschweig, Humboldtstr. 1 und Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36 (West-Berlin). Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten. Erscheinungsweise: Jährlich 8 Hefte (4 Hefte = 1 Band).

BAND 21, HEFT 2 DEZEMBER 1953

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand, Prof. Dr. H. Braun-Bonn, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Braunschweig, Prof. Dr. K. O. Müller-Canberra, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h.c. G. Gassner
Braunschweig

und

Prof. Dr. E. Gäumann
Zürich

Mit 63 Abbildungen

1953

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 21, Heft 2, S. 105—220, Berlin 1953

INHALT

Abhandlungen

Bazzigher, G., Beitrag zur Kenntnis der *Endothia parasitica* (Murr.) And., dem Erreger des Kastaniensterbens. Mit 27 Abb. und 7 Tabellen 105

Teschner, G., Untersuchungen über *Alternaria solani*, den Hartfäule-Erreger der Kartoffel und Fruchtfäule-Erreger der Tomate. Mit 15 Abb. 133

Blumer, S., Über die Eignung von *Penicillium expansum* für eine biologische Bekämpfung von Schwarzfußpilzen (*Rhizoctonia solani* Kühn). Mit 6 Abb. .. 163

Schmidle, A., Zur Kenntnis der Biologie und der Pathogenität von *Dothichiza populea* Sacc. et Briard, dem Erreger eines Rindenbrandes der Pappel. Mit 11 Abb. 189

Paclt, J., Über die Entstehung der Mondringigkeit der Eiche. Mit 4 Abb. 210

Kurze Mitteilungen

Stange, L., Zur Frage nach den Störungen des Stoffwechsels in den Blättern vergilbungskranker Zuckerrüben 214

Hassebrauk, K., Untersuchungen über die Einwirkung von Sulfonamiden und Sulfonen auf Getreideroste. IV. Anatomische Untersuchungen über den Infektionsverlauf bei mit Sulfonamid behandelten Getreidekeimpflanzen 218

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Schriftleitung: Prof. Dr. Dr. h. c. Gassner, Braunschweig, Humboldtstr. 1 und Prof. Dr. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2.
Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47 oder an die Herausgeber: für Arbeiten aus Deutschland und Österreich an Prof. Gassner, für Arbeiten aus anderen Ländern an Prof. Gäumann.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Gassner, Braunschweig. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Gassner vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei.
Honorar für die „Besprechungen" 48,— DM je Druckbogen.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 6 bis 8 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Bogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich.
Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 20,80 DM Einzelpreis 23,00 DM

Soeben erschien:

Bibliographie der Pflanzenschutzliteratur 1940—1945

Herausgegeben von der Biologischen Zentralanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin-Dahlem

Bearbeitet von Dr. J. BÄRNER

2 Bände, 1356 Seiten, brosch. 97,— DM

Aus dem Inhaltsverzeichnis:

Allgemeiner Teil

Sammelwerke und Lehrbücher — Tätigkeitsberichte und Kongresse — Bibliographien

Krankheiten und Ursachen

Allgemeine Krankheitslehre, Infektionen und Epidemien, Krankheitsüberträger, Biologie der Schädlinge, Parasitismus, Saprophyten, Symbiose — Krankheiten mit verschiedenartigen oder unbekannten Ursachen (Chlorosen, Fäulen, Krebs) — Nichtparasitäre Krankheiten — Pflanzliche Feinde — Tierische Feinde — Virus

Krankheiten und Wirtspflanzen

Vegetation und Kulturpflanzen im allgemeinen. Übersicht über das Auftreten von Pflanzen-
nkheiten und Schädlingen — Getreide — Kartoffeln und Rüben — Hülsenfrüchte und
— Handelspflanzen — Obst — Weinrebe — Forstgehölze, Nutzhölzer, Holz-
...er und Holzschutz — Zierpflanzen, Garten- und Gewächshauspflanzen — Tropische Nutzpflanzen — Vorratsschutz — Krankheiten nicht kultivierter Pflanzen und der Kryptogamen

Maßnahmen des Pflanzenschutzes

Pflanzenhygiene — Pflanzentherapie — Förderung und Organisation des Pflanzenschutzes — Gesetzgebung und Verwaltung im Pflanzenschutz — Statistik über die Verbreitung von Pflanzenkrankheiten und Schädlingen

Autorenverzeichnis

r Pflanzenschutzliteratur" erschien erstmalig im Jahre 1921. Bis 1944
21 Bände herausgegeben, die eine Zusammenfassung der gesamten
Weltliteratur des Pflanzenschutzes bis zum Jahre 1939 enthielten.
In Fortsetzung dieser Veröffentlichungen erscheint hiermit eine Literaturzusammenfassung für die Jahre 1940—1945. Weitere sollen in kurzen Abständen folgen, um die noch vorhandene Lücke in der Literaturnachweisung zu schließen.
Die beiden Bände enthalten etwa 26 900 Literaturzitate und ein Autorenverzeichnis von über 11 000 Namen.

Bestellkarte liegt diesem Heft bei.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Dringend gesucht: GARCKE

Illustrierte Flora von Deutschland

22. Auflage 1922

Angebote erbittet:
Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47

Ein Verlagsverzeichnis nach dem neuesten Stande liegt jetzt vor und steht Interessenten kostenlos zur Verfügung.

Krankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen und ihre Bekämpfung

Für Praxis und Studium

Von Prof. Dr. H. BRAUN und Dr. E. RIEHM

7., neubearb. Aufl. 1953. 348 S. m. 290 Textabb., brosch. 24,80 DM, Ganzln. geb. 26,80 DM

„Der ‚Braun-Riehm' ist unbestritten das beste deutsche Buch, das einen Überblick über das Gesamtgebiet der Auswirkung von Krankheiten und Schädlingen an unseren Kulturpflanzen gibt, nicht zuletzt durch seine hervorragende Ausstattung mit Bildmaterial, das in der vorliegenden Auflage eine wesentliche Erweiterung und Verbesserung erfahren hat. Das Buch enthält das, was jeder Student der angewandten Arbeitsrichtung über Krankheiten und Schädlinge wichtiger Nutzpflanzen wissen muß. Mit diesem Grundstock an Kenntnissen wird es ihm leicht werden, sich in speziellere Gebiete hineinzufinden."

Berichte über die gesamte Biologie

„Wo auch immer die Erzeugung landwirtschaftlicher und gärtnerischer Kulturen betrieben wird, wo immer Pflanzenschutz gelehrt und durch Beratung der Praxis nähergebracht wird — ohne ‚Braun-Riehm' geht es nicht."

Saatgut-Wirtschaft

Zeitschrift für angewandte Entomologie

zugleich Organ der „Deutschen Gesellschaft für angewandte Entomologie e. V."

Begründet 1914 von Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. K. ESCHERICH

Herausgegeben von Prof. Dr. W. ZWÖLFER, München

Die „Zeitschrift für angewandte Entomologie" ist das führende internationale Publikationsorgan und damit der Mittelpunkt für die gesamten wissenschaftlichen Forschungen und Interessen auf diesem Gebiet. Ihre Originalbeiträge umfassen Forschungen aus dem Gesamtgebiet der angewandten Entomologie. Grundlagenforschung und Fragen ihrer praktischen Anwendung kommen dabei zu Wort. Sie machen den Hauptteil der Zeitschrift aus und betreffen alle wirtschaftlich schädlichen oder krankheitserregenden bzw. -übertragenden Insekten sowie die Möglichkeit ihrer Bekämpfung mit biologischen, technischen oder chemischen Mitteln, ferner Forschungen über unmittelbar oder mittelbar nützliche Arten wie Bienen, Seidenraupen, Lackschildläuse und andere Rohstofflieferanten unter den Kerbtieren.

Erscheinungsweise: jährlich 1 Band zu 4 Heften in zwangloser Folge, das Heft umfaßt etwa 10 Druckbogen. Bezugspreis: je Druckbogen (16 Seiten) etwa 3,— DM. Die Hefte werden einzeln berechnet.

VERLAG PAUL PAREY

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47 (West-Berlin). Herausgeber Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner, (20b) Braunschweig, Humboldtstr. 1 und Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2 Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36 (West-Berlin). Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 6 bis 8 Hefte (4 Hefte = 1 Band).

BAND 21, HEFT 3 MÄRZ 1954

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand, Prof. Dr. H. Braun-Bonn, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Braunschweig, Prof. Dr. K. O. Müller-Canberra, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. **G. Gassner**
Braunschweig

Prof. Dr. **E. Gäumann**
Zürich

Prof. Dr. **M. Klinkowski**
Aschersleben

Mit 39 Abbildungen

1954

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 21, Heft 3, *S. 221—336, Berlin 1954*

BRANCH MYCOLOGIC

INHALT

Abhandlungen

HOFFMANN, G. M., Beiträge zur physiologischen Spezialisierung des Erregers des Kartoffelschorfes *Streptomyces scabies* (Thaxt.) Waksman and Henrici. Mit 21 Abb. 221

GÄUMANN, E., RICHLÉ, K. H., RIGGENBACH, A. und FLÜCK, V., Über die Wirkung von Pyramidon auf pflanzliche Zellen. Mit 6 Abb. 279

ZOBRIST, L. und THIOLLIÈRE, J., Neue Mittel zur Bekämpfung der Korn- und Boden-„Infektion" des Weizensteinbrandes. Mit 4 Abb. 311

KÖHLER, E., Notizen über Pfropfung und Akronekrose bei Kartoffeln. Mit 4 Abb. 323

PACLT, J., Synopsis of the genus *Catalpa* (*Bignoniaceae*) Part VII (Addenda 2). With 4 figures 329

Kurze Mitteilungen

BAZZI, B. e SCRIVANI, P., Un metodo diagnostico per il riconoscimento del decorso del „mal secco" degli agrumi 333

Besprechungen 335

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Schriftleitung: Prof. Dr. Dr. h. c. Gassner, Braunschweig, Humboldtstr. 1, Professor Dr. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, und Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.

Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Gassner, Braunschweig. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Gassner vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die drei ersten Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei. Honorar für die „Besprechungen" 48,— DM je Druckbogen.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 6 bis 8 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 22,00 DM **Einzelpreis 24,20 DM**

Literatur zur HCH- und Diën-Gruppe

Von Dr. R. RIEMSCHNEIDER
Chemisches Institut der Freien Universität Berlin

Liste III: 128 Seiten, kartoniert DM 25,—
Liste V: 56 Seiten, kartoniert DM 9,60

Diese Schriften enthalten das von dem Verfasser bis 31. Dezember 1951 registrierte Literaturmaterial über die Insektizide der HCH- und Diën-Gruppe. Die über 4000 Titel mit Angaben von Referenten sowie von Arbeitsschwerpunkten und behandelten Insektizid-Gruppen bedeuten für Wissenschaft und Praxis eine wichtige international zu wertende Unterstützung in ihrer vielseitigen Arbeit. Der größte Teil der Literaturangaben trägt einen Hinweis, ob der Schwerpunkt der Arbeit auf chemischem, physikalischem oder biologischem Gebiet zu suchen ist.

Zeitschrift für angewandte Entomologie

zugleich Organ der „Deutschen Gesellschaft für angewandte Entomologie e. V."

Begründet 1914 von Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. K. ESCHERICH

Herausgegeben von Prof. Dr. W. ZWÖLFER, München

Die „Zeitschrift für angewandte Entomologie" ist das führende internationale Publikationsorgan und damit der Mittelpunkt für die gesamten wissenschaftlichen Forschungen und Interessen auf diesem Gebiet. Ihre Originalbeiträge umfassen Forschungen aus dem Gesamtgebiet der angewandten Entomologie. Grundlagenforschung und Fragen ihrer praktischen Anwendung kommen dabei zu Wort. Sie machen den Hauptteil der Zeitschrift aus und betreffen alle wirtschaftlich schädlichen oder krankheitserregenden bzw. -übertragenden Insekten sowie die Möglichkeit ihrer Bekämpfung mit biologischen, technischen oder chemischen Mitteln, ferner Forschungen über unmittelbar oder mittelbar nützliche Arten wie Bienen, Seidenraupen, Lackschildläuse und andere Rohstofflieferanten unter den Kerbtieren.

Erscheinungsweise: jährlich etwa 6 Hefte, der Band zu 4 Heften, in zwangloser Folge, das Heft umfaßt etwa 8 Druckbogen. Bezugspreis: je Druckbogen (16 Seiten) etwa DM 3,—. Die Hefte werden einzeln berechnet.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Handbuch der Pflanzenkrankheiten

begründet von PAUL SORAUER

In sechs Bänden herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. O. APPEL †
Geh. Reg.-Rat, Präsident a. D. der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft

Prof. Dr. H. BLUNCK
ehem. Direktor des Instituts für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn

Prof. Dr. H. RICHTER
Präsident der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft

Soeben erschien:

II. Band: Die Virus- und Bakterienkrankheiten

6. Auflage, 1. Lieferung:

Die Viruskrankheiten

bearbeitet von

Ob.-Reg.-Rat Dr. E. KÖHLER und Prof. Dr. M. KLINKOWSKI

786 Seiten mit 326 Abbildungen. In Ganzleinen DM 150,—

Das Werk vermittelt eine moderne Darstellung der pflanzlichen Viruskrankheiten, wie sie in dieser Vollständigkeit an anderer Stelle nicht existiert. Alle bisher bekanntgewordenen Synonyme der einzelnen Viren und Wirtspflanzen sind aufgezeigt.

Nicht restlos geklärte Fälle, in denen der Charakter der Viruskrankheiten zwar mit großer Wahrscheinlichkeit vermutet werden kann, der exakte Beweis aber noch fehlt, wurden mit aufgenommen. Die neuesten Forschungen sowie das internationale Schrifttum wurden weitgehend eingearbeitet.

Dieses reich illustrierte, zuverlässige Nachschlagewerk ist in seiner hervorragenden Ausstattung für alle auf diesem Fachgebiet Tätigen ein unentbehrliches Rüstzeug.

Die 6. Auflage des II. Bandes erscheint in 2 Lieferungen. Die 2. Lieferung behandelt die Bakterienkrankheiten und erscheint 1955.

Die Lieferungen des II. Bandes sind einzeln käuflich. Bei Verpflichtung zur Abnahme beider Lieferungen ermäßigt sich der Einzelpreis der Lieferungen um 10 %.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47 (West-Berlin), Tel. 61 44 68/69. Herausgeber Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner, (20 b) Braunschweig, Humboldtstraße 1, Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2 und Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36 (West-Berlin).

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten.

— Erscheinungsweise: Jährlich etwa 6 bis 8 Hefte (4 Hefte = 1 Band).

BAND 21, HEFT 4 MAI 1954

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand, Prof. Dr. H. Braun-Bonn, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Braunschweig, Prof. Dr. K. O. Müller-Canberra, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. **G. Gassner**
Braunschweig

Prof. Dr. **E. Gäumann**
Zürich

Prof. Dr. **M. Klinkowski**
Aschersleben

Mit 47 Abbildungen

1954

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 21, Heft 4, *S. 337—452, Berlin 1954*

...LTH MYCOL...

INHALT

Abhandlungen

Deuel, H., Über Störungen des Spurenelementhaushaltes der Pflanzen durch Welketoxine (Literaturbesprechung) 337

Gäumann, E. und Naef-Roth, St., Über die chelierende Wirkung einiger Welketoxine I. (Mit 6 Abb.) 349

Gassner, G. und Niemann, E., Untersuchungen über die Temperatur- und Lichtabhängigkeit der Sporenkeimung verschiedener *Tilletia*-Arten. (Mit 16 Abb.) 367

Bartels, R., Serologische Untersuchungen über das Verhalten des Kartoffel-A-Virus in Tabakpflanzen. (Mit 3 Abb.) 395

Schmid, Roswitha, Über die histologische Spezialisierung von Blatt- und Rindenpilzen, mit besonderer Berücksichtigung ihrer Beziehungen zum Phloem. (Mit 17 Abb.) 407

Scheibe, A., Die phänophasisch bedingte Typenresistenz der Erbsensorten gegen den Erbsenwickler. (Mit 5 Abb.) 433

Besprechungen 449

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Schriftleitung: Prof. Dr. Dr. h. c. Gassner, Braunschweig, Humboldtstr. 1, Professor Dr. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, und Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.

Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Gassner, Braunschweig. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Gassner vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die drei ersten Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei. Honorar für die „Besprechungen" 48,— DM je Druckbogen.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 6 bis 8 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 21,80 DM Einzelpreis 24,— DM

Bibliographie der Pflanzenschutzliteratur

1940—1945

Herausgegeben von der Biologischen Zentralanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin-Dahlem

Bearbeitet von Dr. J. BÄRNER

2 Bände, 1356 Seiten, brosch. 97,— DM

Aus dem Inhaltsverzeichnis:

Allgemeiner Teil

Sammelwerke und Lehrbücher — Tätigkeitsberichte und Kongresse — Bibliographien

Krankheiten und Ursachen

Allgemeine Krankheitslehre, Infektionen und Epidemien, Krankheitsüberträger, Biologie der Schädlinge, Parasitismus, Saprophyten, Symbiose — Krankheiten mit verschiedenartigen oder unbekannten Ursachen (Chlorosen, Fäulen, Krebs) — Nichtparasitäre Krankheiten — Pflanzliche Feinde — Tierische Feinde — Virus

Krankheiten und Wirtspflanzen

Vegetation und Kulturpflanzen im allgemeinen. Übersicht über das Auftreten von Pflanzenkrankheiten und Schädlingen — Getreide — Kartoffeln und Rüben — Hülsenfrüchte und Gräser — Handelspflanzen — Obst — Weinrebe — Forstgehölze, Nutzhölzer, Holzzerstörer und Holzschutz — Zierpflanzen, Garten- und Gewächshauspflanzen — Tropische Nutzpflanzen — Vorratsschutz — Krankheiten nicht kultivierter Pflanzen und der Kryptogamen

Maßnahmen des Pflanzenschutzes

Pflanzenhygiene — Pflanzentherapie — Förderung und Organisation des Pflanzenschutzes — Gesetzgebung und Verwaltung im Pflanzenschutz — Statistik über die Verbreitung von Pflanzenkrankheiten und Schädlingen

Autorenverzeichnis

Die „Bibliographie der Pflanzenschutzliteratur" erschien erstmalig im Jahre 1921. Bis 1944 wurden fortlaufend 21 Bände herausgegeben, die eine Zusammenfassung der gesamten Weltliteratur des Pflanzenschutzes bis zum Jahre 1939 enthielten.

In Fortsetzung dieser Veröffentlichungen erscheint hiermit eine Literaturzusammenfassung für die Jahre 1940—1945. Weitere sollen in kurzen Abständen folgen, um die noch vorhandene Lücke in der Literaturnachweisung zu schließen.

Die beiden Bände enthalten etwa 26 900 Literaturzitate und ein Autorenverzeichnis von über 11 000 Namen.

Bestellkarte liegt diesem Heft bei.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Soeben erschien:

Handbuch der Pflanzenkrankheiten

begründet von PAUL SORAUER

In sechs Bänden herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. O. APPEL †
Geh. Reg.-Rat, Präsident a. D. der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft

Prof. Dr. H. BLUNCK
ehem. Direktor des Instituts für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn

Prof. Dr. H. RICHTER
Präsident der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft

V. Band: Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen, 2. Teil

5. Auflage, 2. Lieferung:

Coleoptera

bearbeitet von Dr. G. Dosse, Prof. Dr. K. Friederichs, F. Heikertinger, A. Horion, Prof. Dr. H. Kemper, R. Kleine, Dr. H. Mühlmann, Dr. G. Schmidt, Dr. W. Speyer, H. E. Wichmann, Dr. E. v. Winning, Prof. Dr. Fr. Zacher.

608 Seiten mit 157 Abbildungen. In Ganzleinen DM 144,—

Die Neuauflage des Bandes V „Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen", 2. Teil, verzeichnet gegenüber der 4. Auflage eine Zunahme des zu bewältigenden Stoffes auf doppelten Umfang. Hierdurch war eine Teilung in fünf, in sich abgeschlossene, mit Inhaltsverzeichnis und Sachregister versehene Lieferungen erforderlich. Die 1. Lieferung: Diptera und Hymenoptera, erschien 1953. Die 3. Lieferung: Heteroptera und Homoptera I. Teil, erscheint voraussichtlich 1954, die 4. Lieferung: Homoptera II. Teil, erscheint 1955, die 5. Lieferung: Vertebrata, erscheint voraussichtlich 1955.

Dieses reich illustrierte und vorzüglich ausgestattete Standardwerk der Weltliteratur zeichnet sich durch kurze Fassung und prägnante Ausdrucksweise aus. Es vermittelt eine zusammenfassende, gut geordnete Übersicht unserer heutigen Kenntnisse über das Gesamtgebiet der Pflanzenschädlinge.

Die Lieferungen des Bandes V sind einzeln käuflich. Bei Verpflichtung zur Abnahme aller Lieferungen dieses Bandes ermäßigt sich der Einzelpreis der Lieferungen um 10 %.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47 (West-Berlin), Tel. 61 44 68/69. Herausgeber Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner, (20 b) Braunschweig, Humboldtstraße 1, Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2 und Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36 (West-Berlin). Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 6 bis 8 Hefte (4 Hefte = 1 Band).